

**Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta**

Studijní program: Postgraduální doktorské studium biomedicíny
Studijní obor: Zobrazovací metody v lékařství



**UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta**

MUDr. Adam Pudlač

**Mapování ukládání železa v mozku na MR u pacientů s neurologickými chorobami
se zaměřením na roztroušenou sklerózou a neuromyelitis optica**

**MRI mapping of brain iron deposition in patients with neurological diseases with a
focus on multiple sclerosis and neuromyelitis optica**

Doktorská disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Andrea Burgetová, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně, a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30.9.2022

MUDr. Adam Pudlač

Identifikační záznam:

PUDLAČ, Adam. *Mapování ukládání železa v mozku na MR u pacientů s neurologickými chorobami se zaměřením na roztroušenou sklerózu a neuromyelitis optica. [MRI mapping of brain iron deposition in patients with neurological diseases with a focus on multiple sclerosis and neuromyelitis optica]*. Praha, 2022. 79 stran, 3 přílohy. Doktorská disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Radiodiagnostická klinika.

Školitel: doc. MUDr. Burgetová Andrea, Ph.D.

Poděkování:

Tato disertační práce vznikla pod vedením mé školitelky doc. MUDr. Andrey Burgetové, Ph.D., které velmi děkuji za pomoc, trpělivost a předání cenných zkušeností, zásadních pro vznik této práce i při přípravě publikací.

Můj dík patří rovněž kolegovi z Radiodiagnostické kliniky prof. MUDr. Lukáši Lambertovi, Ph.D. a doc. MUDr. Petru Duškovi, Ph.D. z Neurologické kliniky 1. lékařské fakulty, Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze za spolupráci a pomoc při zpracování dat a statistické analýze.

Své rodině děkuji za trpělivost a toleranci, díky níž jsem se mohl věnovat postgraduálnímu studiu.

Abstrakt

Cíle: Neuromyelitis optica (NMO) a roztroušená skleróza (RS) se často projevují obdobnými příznaky. Rozlišení obou onemocnění je však důležité zejména z důvodu rozdílné terapie obou chorob. Cílem této práce je zjistit, zda lze tato onemocnění rozlišit na podkladě depozit železa ve strukturách hluboké šedé hmoty centrálního nervového systému (CNS) a zda existuje korelace mezi depozity železa, lokální atrofii hluboké šedé hmoty a klinickou závažností nemoci.

Metodika: Od prosince 2013 do března 2015 bylo na oddělení magnetické rezonance RDG kliniky 1.LF UK a VFN na přístroji MR 1,5T vyšetřeno 40 pacientů s relaps-remitentní formou RS (RRRS), 20 pacientů s NMO a 20 zdravých kontrol. Všichni pacienti s RRRS splňovali revidovaná McDonaldova kritéria, diagnóza NMO byla založena na Wingerchukových kritériích. Všechny 20 pacientů s NMO mělo pozitivní AQP4-IgG. Na MR bylo provedeno kvantitativní mapování susceptibility (QSM) a volumetrie jednotlivých struktur hluboké šedé hmoty. Všichni pacienti s NMO i RRRS současně podstoupili kompletní neurologické vyšetření specialistou na demyelinizační onemocnění. Neurologické postižení bylo hodnoceno Kurtzkeho stupnicí stavu postižení (Expanded Disability Status Scale, EDSS).

Výsledky: U pacientů s NMO byla zjištěna zvýšená magnetická susceptibilita v substantia nigra. Pacienti s RRRS měli nižší hodnoty magnetické susceptibility v thalamu. Pacienti s RRRS i skupina zdravých kontrol měla ve srovnání s pacienty s NMO atrofii thalamu, pulvinaru a putamen. U pacientů s RRRS byla zjištěna korelace mezi neurologickým postižením a magnetickou susceptibilitou v putamen, korelace mezi magnetickou susceptibilitou a atrofií v globus pallidus a putamen, korelace mezi atrofií a postižením v putamen. Pacientů s NMO žádná z těchto korelací nalezena nebyla.

Závěr: Tato studie ukazuje, že porucha homeostázy železa v mozku u pacientů s NMO se vyskytuje v jiných strukturách než u pacientů s RRRS. Na rozdíl od pacientů s RRRS nebyla u pacientů s NMO zjištěna žádná asociace mezi depozity železa, neurologickým postižením a lokální atrofií struktur hluboké šedé hmoty.

Klíčová slova:

Neuromyelitis optica, roztroušená skleróza, magnetická susceptibilita, hluboká šedá hmota, EDSS, kvantitativní mapování susceptibility

Abstract

Background: Neuromyelitis optica (NMO) and multiple sclerosis (MS) often manifest similar symptoms. However, the distinction between the two diseases is particularly important for different therapies. The aim of this study is to determine whether these diseases can be distinguished based on cerebral iron deposits in the deep grey matter and whether there is a correlation between iron deposits, local deep grey matter atrophy and clinical severity of the disease.

Methods: 40 patients with relapsing-remitting MS (RRMS), 20 patients with NMO and 20 healthy subjects were examined at the MRI department of the 1st Faculty of Medicine of Charles University in Prague from December 2013 to March 2015. All patients with RRMS fulfilled the revised McDonald criteria, the diagnosis of NMO was based on Wingerchuk criteria. All 20 patients with NMO had positive AQP4-IgG. Quantitative susceptibility mapping (QSM) and volumetry of individual deep gray matter structures were performed. All patients with NMO and MS underwent simultaneous examination by a specialist in demyelinating diseases. Neurological disability was assessed by the Kurtzke Disability Status Scale (EDSS).

Results: Patients with NMO have higher magnetic susceptibility values in the substantia nigra compared to healthy controls. Patients with RRMS had lower magnetic susceptibility values in the thalamus. Patients with RRMS and healthy controls had atrophy of the thalamus, pulvinar and putamen compared to patients with NMO. In patients with RRMS, there was a correlation between neurological impairment and magnetic susceptibility in the putamen, a correlation between magnetic susceptibility and atrophy in the globus pallidus and putamen, and a correlation between atrophy and impairment in the putamen. None of these correlations were found in patients with NMO.

Conclusions: This study confirms that the disruption of brain iron homeostasis in NMO patients occurs in different structures than in RRMS patients. In contrast to RRMS patients, no association was found between iron deposition, neurological impairment, and local atrophy of deep grey matter structures in NMO patients.

Keywords: Neuromyelitis optica, multiple sclerosis, magnetic susceptibility, deep grey matter, EDSS, quantitative susceptibility mapping

Obsah

Seznam zkratk	9
1. Úvod	10
2. Cíle práce a hypotézy	10
3. Neuromyelitis optica a její zobrazení na MR	11
3.1. Klinický obraz	12
3.2. Nálezy na MR	12
3.3. Stanovení diagnózy	19
4. Roztroušená skleróza a její zobrazení na MR	21
4.1. Klinický obraz	21
4.2. Nálezy na MR	22
4.3. Stanové diagnózy	24
4.4. Porovnání patologií na MR mozku u pacientů s NMOSD a RS	25
4.5. Hodnocení neurologického postižení	26
5. Ukládání železa v mozku	27
6. Hodnocení akumulace železa v mozku pomocí MR	28
6.1. Magnetická susceptibilita mozkové tkáně	28
6.2. SWI sekvence	28
6.3. Kvantitativní mapování citlivosti – QSM (quantitative susceptibility mapping)	30
7. Měření atrofie mozku	33
8. Mapování ukládání železa v mozku u pacientů s NMO a RS. Cíle dizertační práce	34
8.1. Metodika	34
8.2. Demografická analýza vyšetřovaného souboru	35
8.3. MR vyšetření	37
8.4. Obrazová analýza	39
8.5. Statistická analýza	40
8.6. Výsledky	41
8.6.1. Porovnání susceptibility u pacientů s NMO, RRMS a zdravými kontrolami	41

8.6.2. Porovnání objemu struktur hluboké šedé hmoty u pacientů s NMO, RRMS a zdravými kontrolami	44
8.6.3. Korelace magnetické susceptibility a EDSS	48
8.6.4. Korelace magnetické susceptibility a věku	50
8.6.5. Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS	55
8.6.6. Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku	58
8.6.7. Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a magnetické susceptibility	62
8.7. Diskuze	67
8.8. Limity výzkumu	73
9. Závěr.....	74
Literatura	75
Vlastní publikace vztahující se k tématu	79

Seznam zkratek

AQP4- IgG	Protilátka proti aquaporin 4
CIS	Klinicky izolovaný syndrom
CNS	Centrální nervový systém
DIS	Dissemination in space (diseminace v prostoru)
DIT	Dissemination in time (diseminace v čase)
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
HC	skupina zdravých kontrol, Healthy controls
LETM	Longitudinally extensive transverse myelitis
MOG	myelinový oligodendrocytární glykoprotein
MR	Magnetická rezonance
NMO	Neuromyelitis optica
NMOSD	Neuromyelitis optica spectrum disorder (neuromyelitis optica a poruchy jejího širšího spektra)
RRRS	Relaps-remitentní roztroušená skleróza)
RS	Roztroušená skleróza
SN	Substantia nigra
T1W	T1 vážený obraz
T2W	T2 vážený obraz

1. Úvod

Železo hraje důležitou roli v mnoha biologických procesech v lidském organismu. Jako kofaktor se podílí na řadě oxidativních a redukčních procesů, např. při syntéze neurotransmiterů či tvorbě DNA. V organismu existuje mnoho mechanismů k regulaci jeho metabolismu v buňkách a jeho transportu (Bártová P., 2012). Poruchy metabolismu železa a jeho zvýšené ukládání v určitých oblastech mozku jsou spojovány s řadou neurologických onemocnění, jako jsou např. Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Wilsonova choroba, Huntingtonova choroba, roztroušená skleróza či neuromyelitis optica. Pro kvantifikaci a mapování ukládání železa v mozku lze využít zobrazovacích metod, konkrétně speciálních technik magnetické rezonance (MR).

Tato práce je zaměřena na stanovení železa v mozku pomocí MR u pacientů s neuromyelitis optica (NMO) a roztroušenou sklerózou (RS) a současně na hodnocení lokální atrofie struktur hluboké šedé hmoty CNS u těchto skupin pacientů.

Obě tato onemocnění se často projevují obdobnými příznaky a odlišení obou chorob může být velmi obtížné. Diferenciace mezi NMO a RS je velmi důležitá především z terapeutického hlediska, protože se léčebné postupy obou onemocnění výrazně liší. NMO musí být díky těžkým devastujícím atakám léčena mnohem agresivněji, a to jak v období ataky, tak i mezi nimi. Lékem první volby u NMO jsou cytostatika nebo monoklonální protilátky. Naopak léky doporučené jako léky první volby u RS nejsou u pacientů s NMO doporučovány a mohou mít negativní efekt.

2. Cíle práce a hypotézy

Cílem této práce je zjistit, zda lze onemocnění neuromyelitis optica a relaps-remitentní formu RS (RRRS) rozlišit na podkladě depozit železa v hluboké šedé hmotě CNS a zda existuje korelace mezi depozity železa, lokální atrofií struktur hluboké šedé hmoty a klinickou závažností nemoci.

Byly stanoveny následující hypotézy:

Hypotéza 1: Ke zvýšenému ukládání železa v hluboké šedé hmotě dochází v rozdílných lokalizacích.

Hypotéza 2: U obou onemocnění existuje souvislost mezi lokální atrofií struktur hluboké šedé hmoty, depozity železa a klinickou závažností nemoci.

3. Neuromyelitis optica a její zobrazení na MR

Neuromyelitis optica - NMO (Devicova choroba) je devastující autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému, které se klinicky manifestuje záněty zrakového nervu, míchy a mozkového kmene. Tato choroba byla popsána již na konci 19. století (1894) Eugenem Devicem jako monofázické zánětlivé onemocnění postihující míchu a zrakové nervy souběžně nebo v těsné návaznosti. Dlouho byla považována za agresivní podtyp roztroušené sklerózy. Vzhledem k tomu, že terapie obou chorob je zcela odlišná, je jejich rozlišení zásadní.

Obě choroby byly definitivně diferencovány po objevu protilátek proti antigenu akvaporin-4 (NMO-IgG/AQP4-IgG) v roce 2004 u pacientů splňujících původní Wingerchukova kritéria pro NMO (Lennon V.A., 2004). Antigen AQP4-IgG je exprimován zejména astrocyty, je součástí vodní homeostázy a součástí hematoencefalické bariéry. Selektivní destrukce a dysfunkce astrocytů vede k demyelinizaci a ztrátě neuronů.

Vzhledem k tomu, že se u řady pacientů i přes pozitivitu protilátek proti akvaporinu-4 nepodařilo naplnit diagnostická kritéria pro NMO, byla v roce 2007 vytvořena skupina poruch širšího spektra NMO, tzv. NMOSD (neuromyelitis optica spectrum disease). Platí pro ni specifická diagnostická kritéria, která byla naposledy revidována v roce 2015 a rozdělila pacienty NMOSD do 2 kategorií:

- Skupina s protilátkami proti AQP4 (séropozitivní NMOSD)
- Skupina bez protilátek proti AQP4 (séronegativní NMOSD)

U části pacientů AQP4 séronegativní NMOSD byla zjištěna protilátka MOG (myelinový oligodendrocytární glykoprotein). V těchto případech mluvíme o MOG encefalomyelitidě, která má obdobné klinické projevy jako NMO.

Přesná prevalence NMO v České republice není známa, ale odhaduje se na 1% demyelinizačních onemocnění (KKNEU0031, 2020). Ve světě jsou v prevalenci tohoto onemocnění významné rozdíly, výrazně vyšší je u Asijské a Africké populace (Papp V., 2021). Častěji se vyskytuje u žen, medián jeho první manifestace je 39 let, ale může se vyskytnout v jakémkoliv věku (Nytrová P., 2015).

3.1. Klinický obraz

NMO se projevuje bolestí za okem, výpadky zorného pole, změnou barvocitu nebo snížením zrakové ostrosti. Typicky má poměrně rychlý rozvoj s výrazným otokem na papile. Změny se mohou rozvinout během několika hodin a mohou mít těžký průběh bez úplné úpravy. U jedinců nad 50 let je pak často mylně považována za ischemickou neuropatii.

Původně bylo onemocnění popsáno jako monofázické, jeho průběh však může mít formu relaps-remitentní a ojediněle se lze setkat i s primárně progresivním průběhem.

Kmenové příznaky jako zvracení či neztížitelný singultus se vyskytují u čtvrtiny nemocných (sy. area postrema). Není vzácná ani ztráta sluchu, diplopie, neuralgie trigeminu a nystagmus. Postižení dechového centra vede k respiračnímu selhání, postižení hypothalamu se projevuje polyurií, nadměrnou denní spavostí, hypotermií, hypotenzí a obezitou. Myelitida probíhá často pod obrazem para- či kvadruparézy nebo plegie s poruchami čítí a sfinkterovými poruchami.

U části pacientů pozorujeme také další autoimunitní onemocnění jako systémový lupus erythematosus (SLE), Sjögrenův syndrom či myastenia gravis (Nytrová P., 2015).

3.2. Nálezy na MR

MR mozku

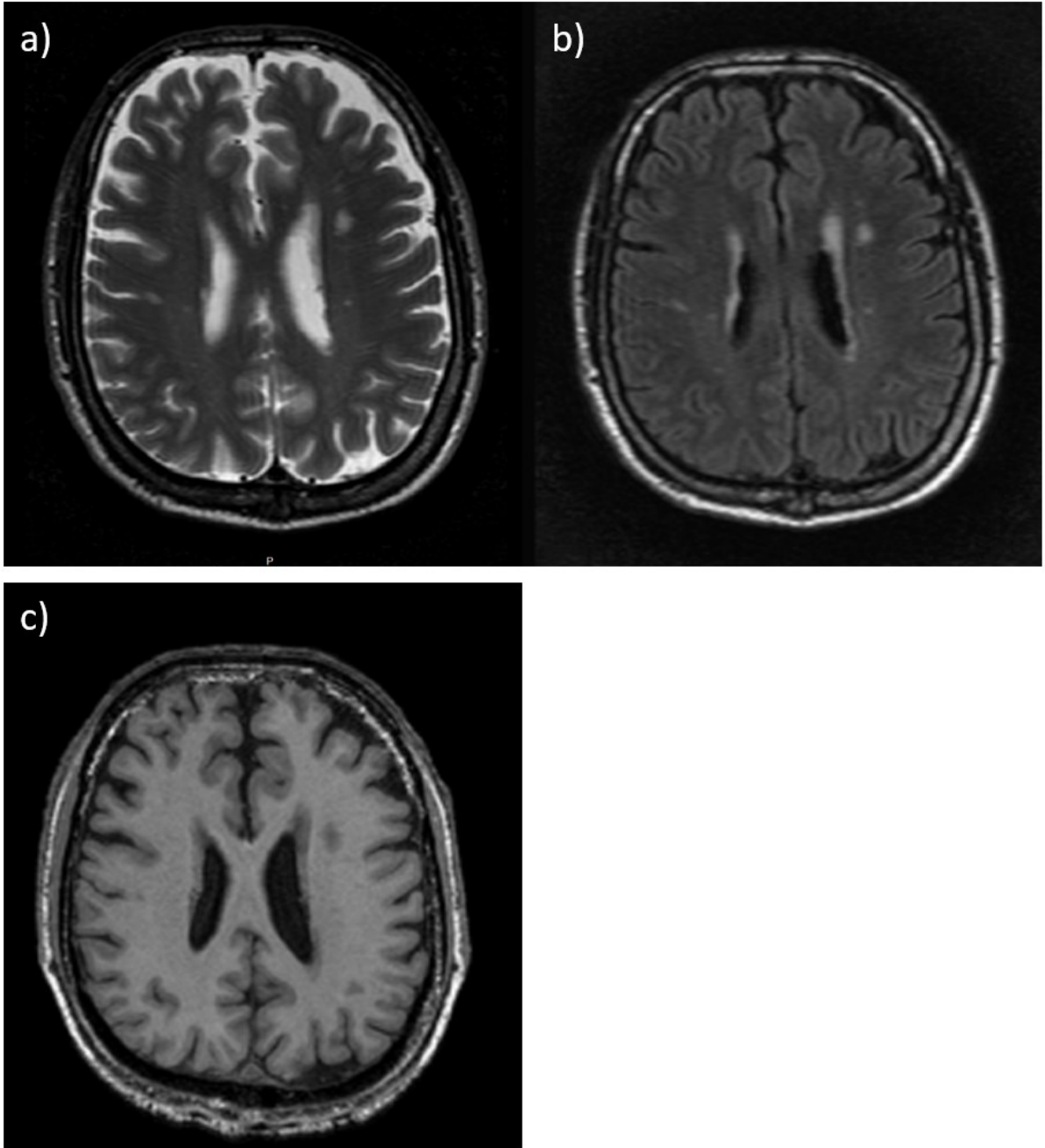
Původně se předpokládalo, že na MR mozku nemají pacienti s NMO žádný nález. 50 % pacientů má však nález na MR mozku již v počátku onemocnění, v dalším průběhu se toto procento zvyšuje. Hyperintenzní ložiska v T2W obraze a FLAIR (obr. 1,2) jsou patrna zejména v oblastech se zvýšenou expresí antigenu AQP4, ale mohou se vyskytnout také v oblastech, které s expresí tohoto antigenu nejsou spjaty (Vaněčková M., 2020).

Obvyklá lokalizace patologií je:

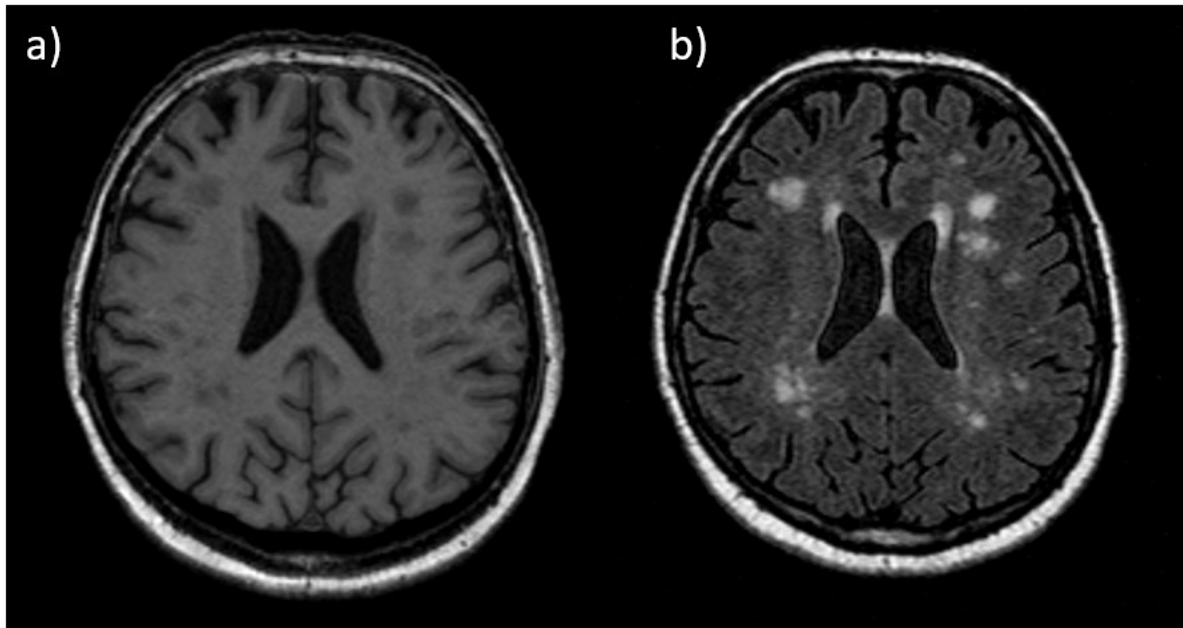
1. Diencefalon a okolí III. komory a akveduktu
 - periependymální oblast mezimozku přilehlou k Sylviově akveduktu, kolem III. a IV. komory, někdy zasahující i do oblasti hypothalamu.
 - Oblast s vysokou expresí AQP4
 - Typické pro NMOSD ale ne pro RS
2. Ložiska v dorzální části kmene a okolí IV. komory
 - Typická ložiska pro NMOSD
 - Velký význam u séronegativních pacientů
 - Vysoce specifické je postižení area postrema a nucleus tractus solitarius, klinicky mu odpovídá sy. area postrema

- V prodloužené míše bývají ložiska drobná a lineární a mohou přecházet na krční míchu
 - Často je přítomno i postižení dorzálního pontu a mozečku
3. Ložiska v oblasti bílé hmoty a mozkových laloků
- postižení může být značně rozsáhlé, často větší než 3 cm
 - často vyplňující celé corpus callosum a přecházející přes střední čáru
 - ložiska uni- i bilaterální
 - zahrnují subkortikální nebo hlubokou bílou hmotu
 - nebývá přítomen mass efekt
 - jsou vřetenovitého i paprscitého tvaru
 - zvýšení signálu na ADC mapě jako korelát vasogenního edému u akutních demyelinizací
 - rozsáhlejší postižení u AQP4 pozitivních pacientů
 - v chronických fázích se ložiska zmenšují a mohou se objevit cystické změny
4. ložiska v okolí postranních komor
- ložiska v okolí postranních komor méně často než v blízkosti III. a IV. komory
 - uložena obvykle paralelně s průběhem komory (na rozdíl od RS, kde vidáme ložiska ovoidní, kolmá na postranní komory, označované jako tzv. Dawsonovy prsty)
 - chybí kortikální postižení a léze v oblasti bílé hmoty nemají typicky centrálně uloženou venulu jako u pacientů s RS
 - postižení corpus callosum někdy připodobňováno k mramorování
 - v chronické fázi se často zmenšují, objevují se cystické změny, mohou i vymizet
 - může dojít k atrofii corpus callosum
5. postižení pyramidové dráhy v oblasti zadního raménka capsula interna a v oblasti mozkových pendukulů
- unilaterální i bilaterální postižení
 - tato oblast není spojená s expresí AQP4
 - není jasné, proč je postižena
6. nespecifické ložiskové postižení bílé hmoty supratentoriálně
- časté, nespecifické drobnoložiskové postižení
 - ložiska bývají asymptomatická

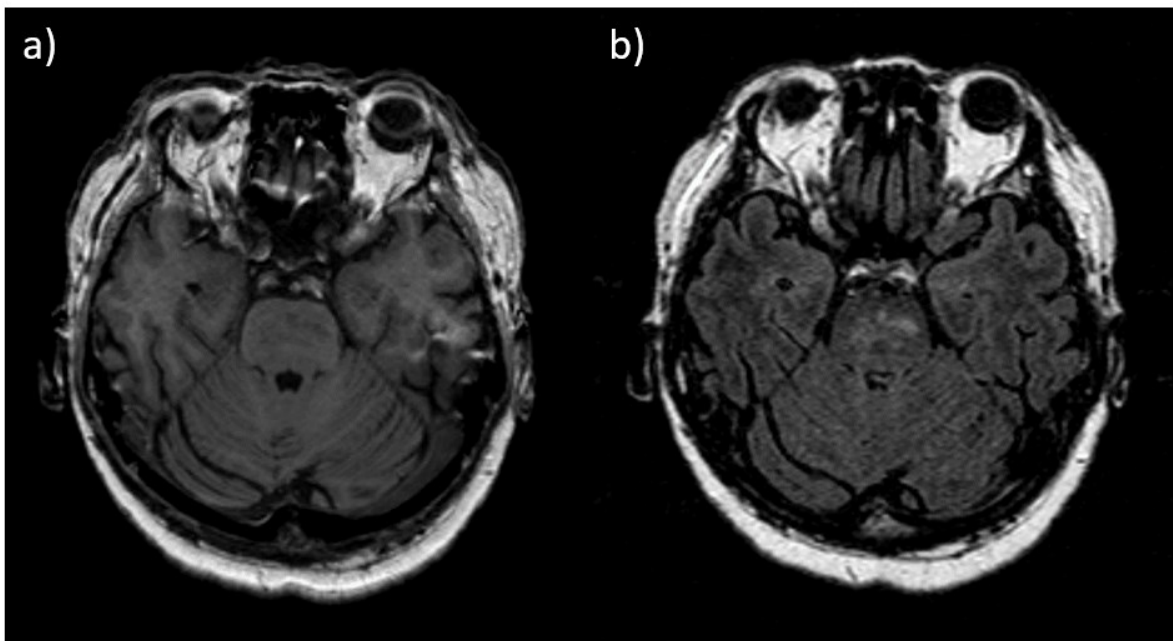
Po podání kontrastní látky někdy bývá popisován „cloud like enhancement“ (obr. 3). Ten je na rozdíl od RS diskrétní a hůře ohraničený. Dále může být přítomno sycení ependymu komor, které se přirovnává k obtažení tužkou či sycení nodulární, prstenčité nebo leptomeningeální (Vaněčková M., 2020).



Obr.1: Ložiskové postižení mozku pacienta s NMO, ložiska oboustranně supratentoriálně v bílé hmotě hyperintenzní v T2W (a) a FLAIR (b), hypointenzní v T1W (c)



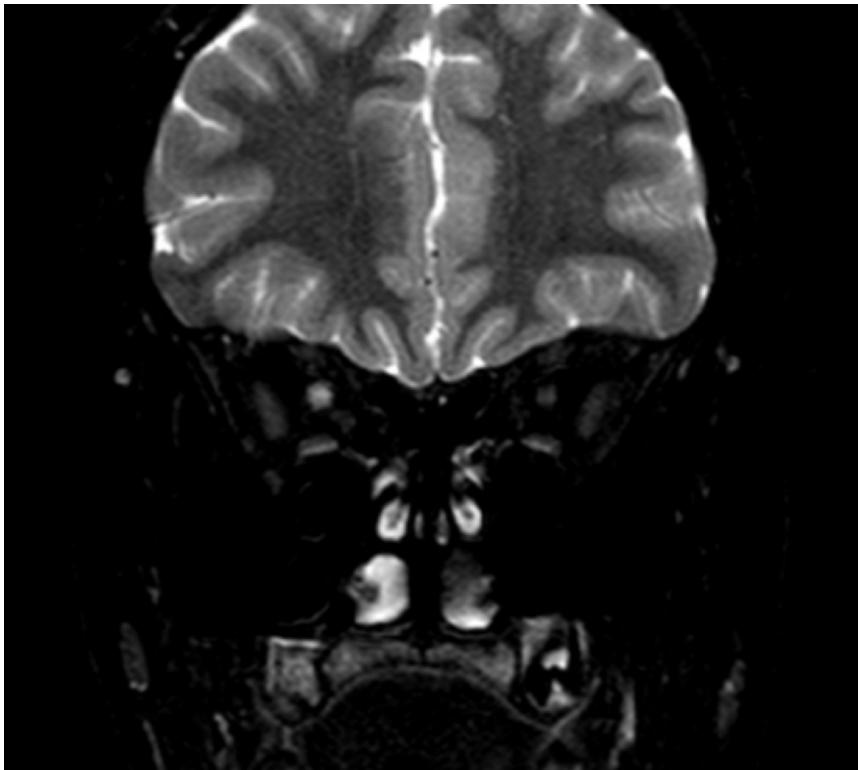
Obr. 2: Ložiskové postižení mozku pacienta s NMO, ložiska oboustranně supratentoriálně v bílé hmotě hypointenzní v T1W (a), hyperintenzní ve FLAIR (b)



Obr. 3: Ložiskové postižení pontu u pacienta s NMO v T1W nativně a po podání kontrastní látky i.v.

Postižení optického nervu

Postižení optického nervu – optická neuritida, se v MR obraze zobrazuje rozšířením nervus opticus, zvýšením jeho signálu v T2W a sycením po podání kontrastní látky (obr. 4). Obvykle je patrné oboustranné postižení s ložisky, která zaujímají více než 50% délky optického nervu. Na rozdíl od RS je obvykle postiženo chiasma opticum. Toto postižení je typické pro akutní stádium a je patrné pouze po přechodnou dobu. V chronickém stádiu nemoci může být patrná atrofie optického nervu s variabilně zvýšeným signálem v T2W (Vaněčková M., 2010, Ramanathan S., 2016).



Obr. 4: Postižení optického nervu vpravo u pacienta s NMOSD. Koronální T2W snímek. Optický nerv vpravo rozšířený, hyperintenzní. Vlevo obvyklý obraz nervus opticus.

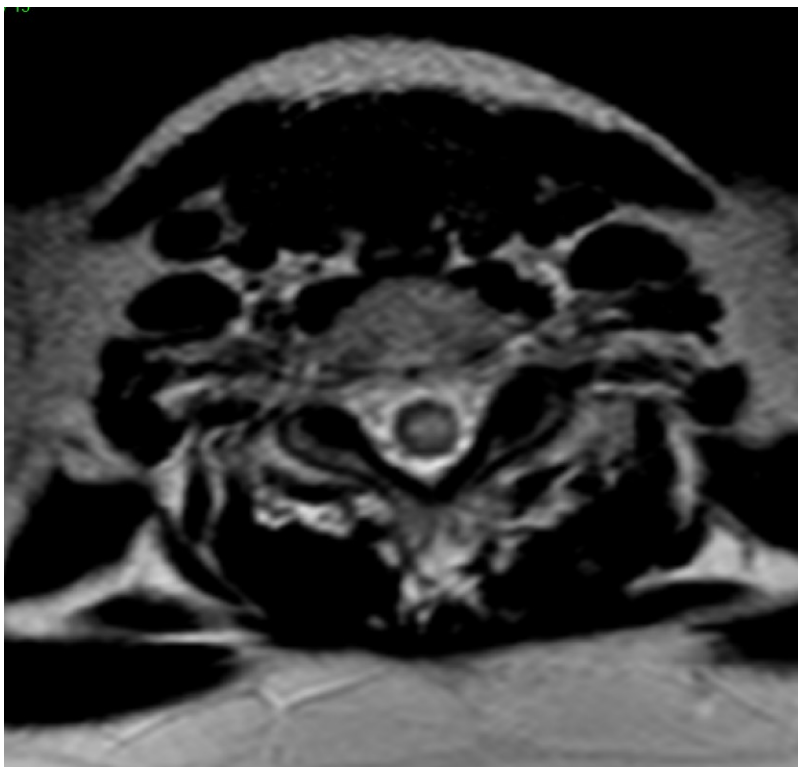
MR páteře:

Typickým nálezem na míše je longitudinální extenzivní transverzální myelitida (Longitudinally extensive transverse myelitis, LETM). Ložiska jsou rozsáhlejší než u RS. Obvykle dosahují průměrné délky 4,5 – 8,7 obratlových segmentů a postihují centrální šedou hmotu podél centrálního kanálku. To koresponduje s oblastí vyšší exprese AQP4. Pokud jsou ložiska rozsáhlejší, zasahují i do periferie a na transverzálních řezech postihují více než 50 % plochy míchy.

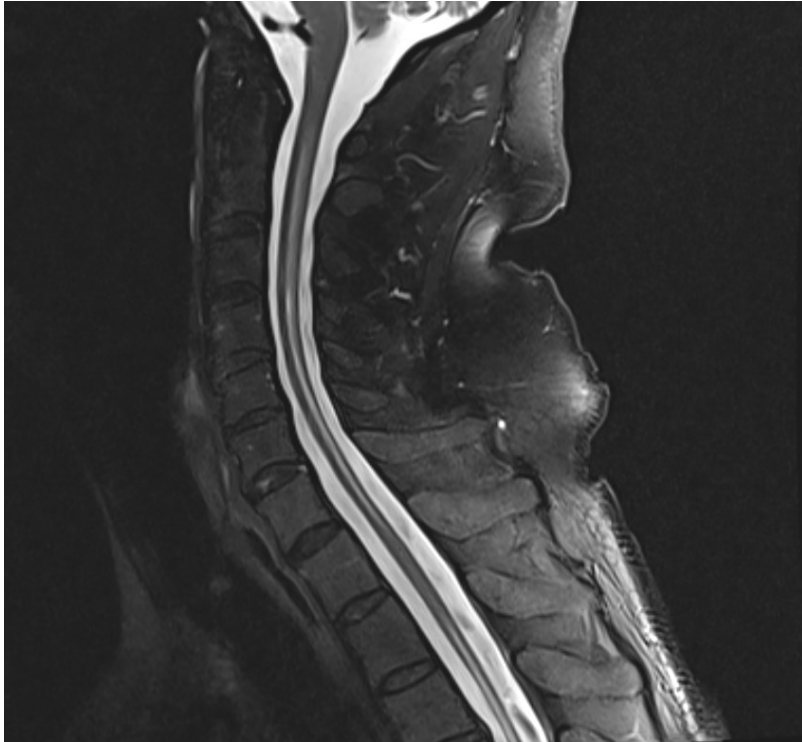
Typicky jsou patrná v krční a hrudní míše jako T2W hyperintenzní ložiska (obr. 5-7). V akutním stádiu je přítomen edém. V T1W jsou ložiska hypointenzní. Pokud je ložisko hyperintenzní v T2W s výrazně hyperintenzními tečkami, které korelují s T1W hypointenzitami, jedná se o ložisko typické pro NMO ne pro RS.

Postkontrastně dochází často k sycení ložisek. Toto sycení bývá nepravidelné, obláčkovité a může přetrvávat i několik týdnů. Po léčbě kortikoidy může dojít k vymizení či fragmentaci ložisek. Pokud je MR provedena v této době, zobrazí se vícečetná drobná ložiska, která nesplňují kritéria pro LETM. Obdobná kratší ložiska můžeme najít také u pacientů na chronické imunosupresivní terapii pro jiné autoimunitní onemocnění či u pacientů po léčbě optické neuritidy.

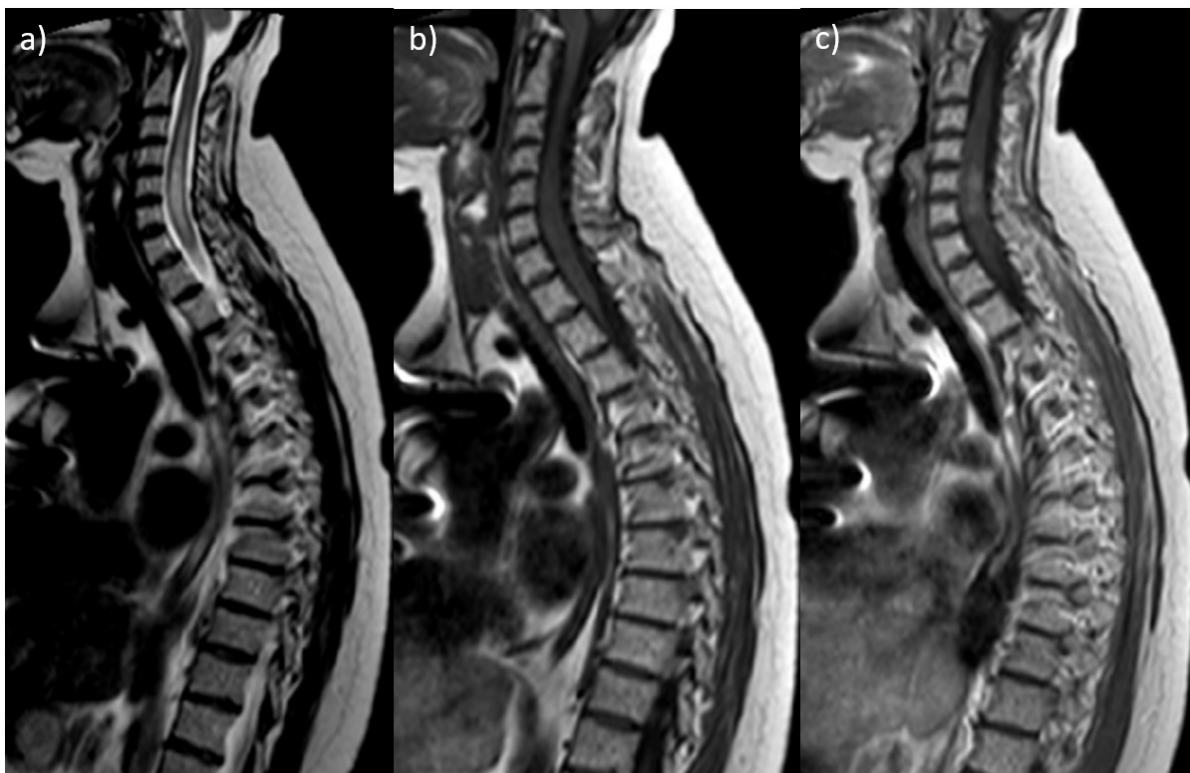
Postupně u řady pacientů dochází k atrofii míchy, která koreluje s neurologickým postižením. Pokud je atrofie míchy rozsahu alespoň 3 obratlových segmentů, umožňuje i bez přítomnosti LETM splnění revidovaných kritérií pro NMOSD z roku 2015.

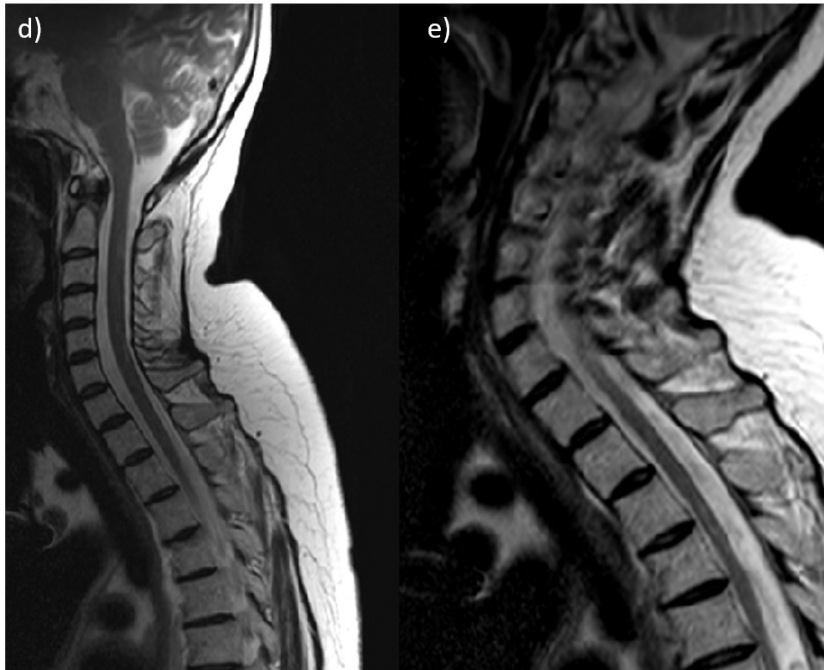


Obr. 5: Postižení míchy pacienta s NMO na přechodu krční a hrudní páteře. Hyperintenzní ložisko míchy postihující většinu průřezu, transverzální T2W obraz.



Obr. 6: Postižení hrudní a krční míchy u pacienta s NMO, rozsáhlé LETM léze v T2W v sagitální rovině





Obr. 7: MR páteře pacienta s NMO, nativní a postkontrastní vyšetření. LETM na T2W (a), prakticky bez korelátu na T1W (b), postkontrastní cloud-like enhancement (c), kontrolní vyšetření po terapii s výraznou regresí ložiska, T2W (d), nově ložiskové postižení hrudní páteře na vyšetření po 3 letech, T2W (e)

3.3. Stanovení diagnózy

Pro stanovení diagnózy NMO jsou používána Wingerchukova kritéria z roku 2006 (Wingerchuk D.M., 2006) s revizí v roce 2015 (Wingerchuk D.M., 2015), kdy byly sjednoceny pojmy NMO a NMOSD. Vzhledem k větší míře diagnostické nejistoty a potenciální heterogenitě séronegativní NMOSD byla vypracována kritéria jak pro NMOSD s AQP4-IgG, tak pro NMOSD bez AQP4-IgG.

Diagnostika NMOSD rozlišuje 2 základní situace:

- antiAQP4-IgG pozitivní pacienti
- antiAQP4-IgG negativní pacienti

Stanovuje se dle následujících kritérií:

Séropozitivní NMOSD

1. Naplnění alespoň jedné jádrové klinické charakteristiky
2. Přídavná MR kritéria jen v případě symptomatické narkolepsie, akutní diencefalického syndromu a cerebrálního syndromu
3. Pozitivita antiAQP4
4. Vyloučení jiných příčin

Séronegativní NMOSD

1. Naplnění alespoň 2 jádrových klinických charakteristik (alespoň jednou z nich musí být optická neuritida, postižení míchy LETM či syndrom area postrema za podmínky diseminace v prostoru)
2. Naplněna MR přídavná kritéria
3. Negativita antiAQP4
4. Vyloučení jiných příčin

Jádrové klinické charakteristiky

1. Optická neuritida
2. Akutní myelitida
3. Syndrom area postrema
4. Akutní kmenový syndrom
5. Symptomatická narkolepsie a akutní diencefalický syndrom (s NMOSD typickými mozkovými lézemi)
6. Symptomatický cerebrální syndrom (s NMOSD typickými mozkovými lézemi)

Přídavná MR kritéria – specifický MR obraz pro jednotlivé jádrové charakteristiky

1. Optická neuritida
 - a. Normální MR nález na mozku či nespecifické změny bílé hmoty
 - b. Hyperintenzity optického nervu v T2W či syčení optického nervu přesahující polovinu jeho délky či zasahující do chiasmatu
2. Akutní myelitida – LETM postihující alespoň 3 obratlové segmenty nebo kontinuální fokální atrofie postihující alespoň 3 segmenty
3. Sy. area postrema – MR nález v dorzální medulla oblongata
4. Akutní kmenový sy. – odpovídající kmenová léze na MR s periependymálním uložením

(KKNEU0031, 2020)

4. Roztroušená skleróza a její zobrazení na MR

Roztroušená skleróza (RS) je chronické zánětlivé demyelinizační onemocnění centrální nervové soustavy (CNS) vedoucí k demyelinizaci nervových vláken a jejich následné ztrátě. Jedná se o autoimunitní onemocnění, kde cílovými antigeny jsou antigeny myelinové pochvy nervových vláken v CNS. Postihuje zejména mladé lidi ve věku 20–40 let, ženy onemocní 2× častěji než muži. Incidence RS v České republice je 11,7 nemocných na 100 000 obyvatel za rok.

4.1. Klinický obraz

O typu klinických příznaků rozhoduje místo CNS, kde se vytvořilo zánětlivé ložisko. Jednotlivá ložiska v průběhu nemoci mají tendenci splývat. Rozsah splývajících ložisek pak koreluje s tíží neurologické poruchy.

Nejčastější příznaky jsou:

1. optická neuritida – jeden z nejčastějších počátečních příznaků, projevuje se zamlženým viděním, bolestí při pohybu bulbu, výpadky zorného pole, poruchami barevného vidění
2. poruchy citlivosti – častý časný příznak, hypestezie, parestezie, hyperestezie bez typické periferní distribuce, často jsou bagatelizovány a mohou během několik týdnů vymizet bez návštěvy lékaře
3. centrální poruchy hybnosti (parézy) provázené spasticitou, vyššími reflexy a přítomností pyramidových iritačních jevů.
4. postižení mozkových nervů – nejčastěji internukleární oftalmoplegie
5. vestibulocerebellární poruchy – intenční tremor, dyskoordinace, dysartrie, mozečková skandovaná řeč, poruchy rovnováhy, porucha posturálních reflexů, nystagmus
6. sfinkterové obtíže
7. deprese
8. patologická únava
9. kognitivní poruchy (Havrdová E., 2008)

Průběh onemocnění je nejčastěji relaps-remitentní s různě dlouhými obdobími remisí a s různou mírou trvalých následků po jednotlivých atakách. Dále přechází do stádia sekundární chronické progresy, kdy zvolna postupuje neurologická invalidita. Pokud dojde k tomuto pozvolnému nárůstu onemocnění již od počátku, označujeme tento typ za primární progresi. Asi 3 % pacientů mají tzv. maligní průběh – relabující progredující formu, která je charakterizována těžkými atakami, progresí neurologického nálezu a časnou invaliditou.

Onemocnění není vyléčitelné. Při včasné léčbě lze však často ovlivnit průběh nemoci, zvláště pokud je léčba zahájena v období prvních klinických příznaků (klinicky izolovaného syndromu – CIS).

Cílem diagnostického procesu je prokázat diseminaci zánětlivého procesu v prostoru CNS a v čase za pomoci klinického nálezu, MRI a vyšetření likvoru.

4.2. Nálezy na MR

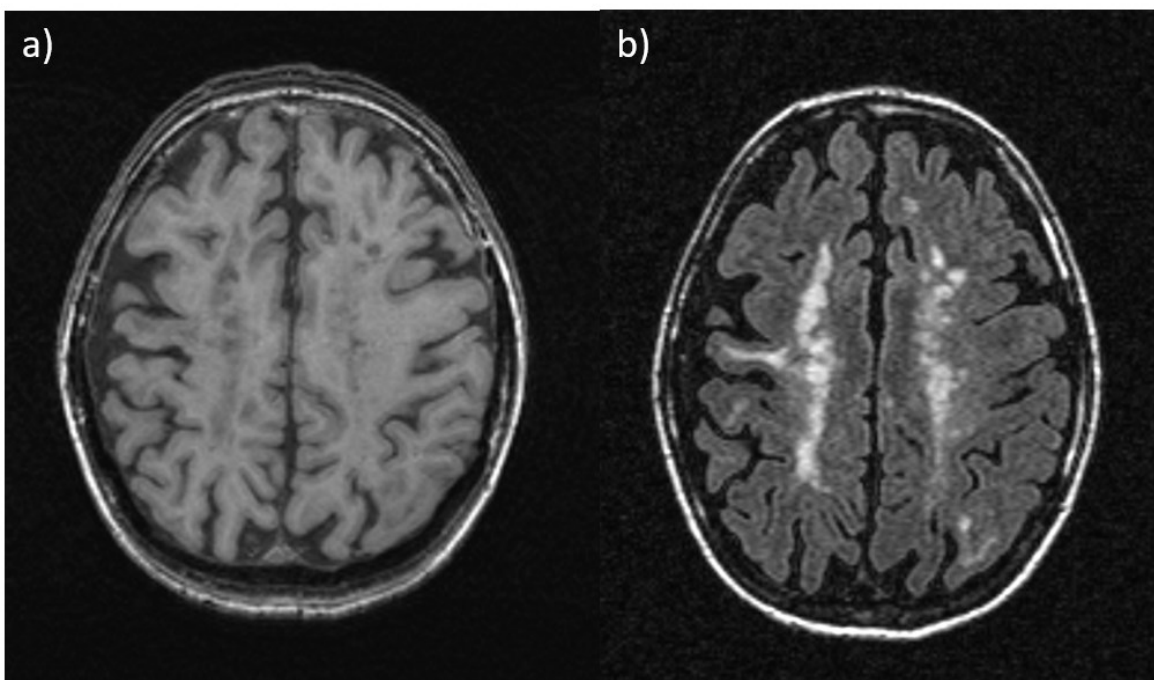
MR mozku

Základním patologickým nálezem u RS na MR mozku jsou hyperintenzní ložiska v T2W a FLAIR (obr. 8), tzv. plaky, která mohou i nemusí mít korelát T1W jako hypointenzní ložiska, tzv. černé díry („black holes“). Tato v T1W hypointenzní ložiska vznikají na podkladě výrazné tkáňové destrukce, axonální ztráty a demyelinizace. Vyskytují se zejména v zadní jámě lební a míše. Musí mít korelát s hyperintenzními ložisky v T2W obrazech. Postkontrastní syčení ložisek svědčí pro porušení hematoencefalické bariéry a je známkou aktivity onemocnění. Vzhledem k tomu, že se syčení objevuje pouze v krátkém časovém intervalu – obvykle 2-12 týdnů a 90 % ložisek vymizí do 6 měsíců, nemá tento parametr obvykle v ročních kontrolních vyšetřeních větší význam (Vaněčková M., 2018). O aktivitě onemocnění tak informuje více přítomnost aktivních ložisek (nových či zvětšených) v T2W obrazech (Vaněčková M., 2019). Podání kontrastní látky je však nutné k potvrzení diseminace v čase, která je jedním z McDonaldových kritérií.

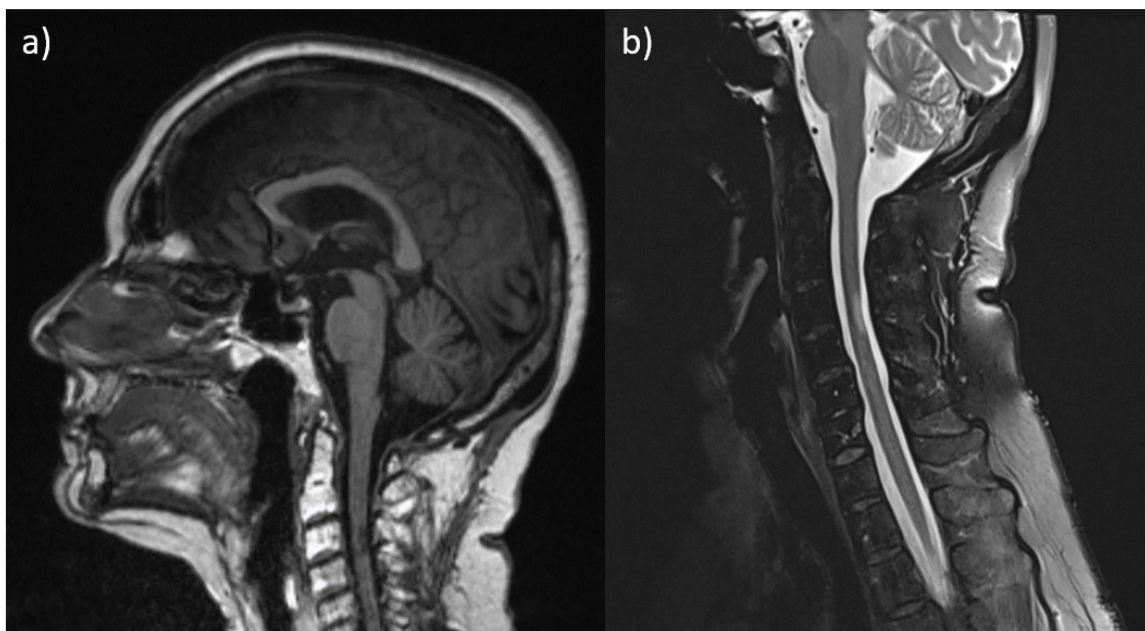
Okolo T2W hyperintenzních lézí může být přítomen edém, který se zobrazuje jako haló. Tento edém postupně vymizí a ložiska dosáhnou své skutečné velikosti do 6 měsíců (Vaněčková M., 2008).

Ložiska se mohou vyskytnout v jakékoliv části mozku či míchy, predilekčně se však vyskytují periventrikulárně, v corpus callosum a juxtakortikálně. Léze v corpus callosum se typicky šíří radiálně od povrchu komor a nazývají se Dawsonovy prsty. Inftratentoriálně mohou být léze v mozečku, pontu, mezencefalu či prodloužené míše. Hluboká šedá hmota bývá postižena zřídka – obvykle bazální ganglia či thalamus.

V šedé hmotě kortikálně, subkortikálně či v hluboké šedé hmotě se mohou vyskytnout také T2W hypointenzní ložiska. Jejich podkladem je ukládání železa. Vyskytují se zejména v thalamu, v putamen, v nucleus caudatus či rolandické šedé hmotě (Bakshi R. et al., 2000). Tato ložiska výrazně korelují s délkou nemoci, klinickým průběhem a stupněm neurologického postižení. Korelují také s mozkovou atrofií a objemem patologickým T2W hyperintenzních ložisek (Bermel R. et al., 2005, Brass S. et al., 2006)



Obr. 8: Ložiskové postižení mozku u pacienta s RS, transversální řezy, hypointenzní ložiska v T1W (a), hyperintenzní ložiska ve FLAIR (b)



Obr. 9: Ložiskové postižení míchy v úrovni C3 u pacientky s RS, sagitální řezy, hypointenzní ložisko v T1W (a), hyperintenzní ložisko v T2W (b)

MR páteře

Intramedulární ložiska se u pacientů s RS vyskytují často. Typicky plaka nepřesahuje 2 obratlová těla a je uložena excentricky (obr. 9). V 60 % je postižena krční mícha a ve více než polovině případů je přítomno více než 1 ložisko (Vaněčková M., 2013).

4.3. Stanovení diagnózy

Pro diagnostiku jsou používána McDonaldova kritéria přijatá v roce 2001 a revidovaná naposledy v roce 2017. Kritéria jsou kombinací klinických a paraklinických vyšetření. Umožňují diagnostikovat RS už po první atace z prvního MR skenu, pokud splňuje podmínky diseminace procesu v prostoru a čase. Diseminace v prostoru (dissemination in space, DIS) znamená přítomnost alespoň jedné T2- hyperintenzní léze ve 2 ze 4 lokalizací typických pro RS (periventrikulárně, juxtakortikálně, infratentoriálně nebo v míše). Diseminaci v čase (dissemination in time, DIT) představuje současná přítomnost asymptomatických či symptomatických postkontrastně se sytících a nesyťících lézí. Pokud tato kritéria nejsou splněna, je nutné provést kontrolní MR vyšetření s časovým odstupem (Sládková V., 2015). Diseminaci v čase pak potvrzuje alespoň jedno nové ložisko v T2W nebo nově se sytící ložisko (tab. 1, tab. 2).

Tab. 1: Revidovaná McDonaldova kritéria 2017 (Thompson et al, 2017)

Klinický stav	Doplňková data nutná pro dg
2 a více atak, objektivně přítomnost 2 a více lézí	Dg. RS, další vyšetření nejsou nutná
2 a více atak, objektivně přítomnost 1 léze (v anamnéze předchozí ataka v odlišné anatomické lokalizaci)	Dg. RS, další vyšetření nejsou nutná
2 a více atak, objektivně přítomnost 1 léze	Diseminace v prostoru demonstrována další klinickou atakou jiné lokalizaci či na DIS MR
1 ataka, objektivně přítomnost 2 a více lézí	Diseminace v čase demonstrována další klinickou atakou nebo DIT na MR nebo přítomnost RS specifických oligoklonálních pásů
1 ataka, objektivně přítomnost 1 léze	Diseminace v prostoru charakterizovaná další klinickou atakou jiné lokalizace nebo DIS na MR a diseminace v čase charakterizovaná další klinickou atakou nebo DIT na MR nebo přítomnost RS specifických oligoklonálních pásů

Tab. 2: Revidovaná McDonaldova kritéria 2017 pro diseminaci v prostoru a čase na MR (Thompson et al, 2017)

Diseminace v prostoru	Diseminace v čase
<p>≥1 T2W ložisko ve 2 ze 4 typických lokalizací</p> <ul style="list-style-type: none"> - Periventrikulárně - Juxtakortikálně/kortikálně - Infratentoriálně - Intramedulárně 	<ul style="list-style-type: none"> - Současná přítomnost sytícího a nesyťícího se ložiska - Alespoň 1 nové T2W ložisko nebo syťící se ložisko

4.4. Porovnání patologií na MR mozku u pacientů s NMOSD a RS

Jak již bylo uvedeno výše, je rozlišení NMOSD a RS velmi důležité zejména pro správnou terapii onemocnění a MR hraje v jejich diagnostice důležitou roli. Srovnání patologických nálezů na MR mozku u obou těchto onemocnění je přehledně uvedeno v tabulce 3.

Tab. 3: Rozdílné patologické nálezy na MR mozku u pacientů s RS a NMOSD (Vaněčková M., 2020)

NMOSD	RS
Periventrikulární ložiska zasahující k postranním komorám a do corpus callosum	Ložiska orientovaná kolmo k postranním komorám (Dawsonovy prsty)
Rozsáhlá, edematózní ložiska, heterogenní (mramorovaná) ložiska v corpus callosum	Ložiska lokalizovaná v kaudální části corpus callosum nebo v oblasti calloso-septální
Rozsáhlá, splývající ložiska v mozkových lalocích	Drobná ovoidní ložiska
Ložiska přilehlá k postranním komorám, III. a IV. komoře, podél ependymální výstelky	Ložiska zasahující periventrikulárně v oblasti dolní části temporálního laloku
Rozsáhlá, extensivní ložiska kortikospinálního traktu	Juxtakortikální ložiska v oblasti U vlákem
Kortikální ložiska raritní	Kortikální ložiska častá
Periventrikulární ložiska méně častá	Periventrikulární ložiska častá
Asymptomatická ložiska méně častá	Asymptomatická ložiska více častá

4.5. Hodnocení neurologického postižení

Pro objektivní hodnocení neurologického postižení a závažnosti příznaků se používá Kurtzkeho stupnice postižení - Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke J.F., 1983).

Vychází se standardního neurologického vyšetření.

Hodnotí se mobilita a 7 funkčních systémů (FS):

- Zrakový
- Kmenový
- Pyramidový
- Mozečkový
- Senzitivní
- Mentální
- Sfinkterové funkce

Každý systém je hodnocen ve škále 0-5(6), kdy 0 značí normu, 1 – mírné abnormality, další pak hodnoty dle stupně postižení.

0 – normální nález (všechny FS = 0)

1,0 – bez postižení (jeden FS = 1, ostatní = 0)

1,5 – bez postižení (dva FS = 1, ostatní = 0)

2,0 – minimální postižení v jednom FS (jeden FS = 2, ostatní FS = 0 nebo 1)

2,5 – minimální postižení ve dvou FS (dva FS = 2, ostatní FS = 0 nebo 1)

3,0 – střední postižení v jednom FS (jeden FS = 3, ostatní FS = 0 nebo 1)

3,5 – střední postižení v jednom FS (jeden FS = 3), lehká postižení v jednom nebo dvou (FS = 2), ostatní FS = 0–1

4,0 – chůze bez opory a bez zastavení ≥ 500 m,

4,5 – chůze bez opory a bez zastavení ≥ 300 m,

5,0 – chůze bez opory a bez zastavení ≥ 200 m,

5,5 – chůze bez opory a bez zastavení ≥ 100 m

6,0 – jednostranná opora v chůzi, schopen ujít ≥ 100 m s nebo bez zastávky

6,5 – oboustranná opora v chůzi, schopen ujít ≥ 20 m s nebo bez zastávky

7,0 – neschopen ujít 5 m ani s pomocí, odkázaný na invalidní křeslo, s nímž je schopen se pohybovat sám a stejně jako zvládá transfer na něj a z něj

7,5 – odkázaný na invalidní křeslo, potřebuje pomoc s transferem na křeslo a/nebo s ovládáním křesla 8,0 – odkázaný na lůžko nebo invalidní křeslo, většinu dne mimo lůžko, zvládá některé úkony sebeobsluhy a efektivně používá horní končetiny

8,5 – odkázaný na lůžko po většinu dne, některé úkony sebeobsluhy zvládá stejně, jako efektivně používá horní končetiny.

9,0 – bezmocný pacient, schopen polykat i komunikovat

9,5 – zcela bezmocný pacient, neschopen polykat ani komunikovat
10 – smrt v důsledku RS
(Dufek M., 2011)

5. Ukládání železa v mozku

Železo patří mezi esenciální stopové prvky a je nezbytné pro mnoho pochodů v lidském organismu. V mozku se účastní mnoha neurobiologických procesů, jako jsou syntéza neurotransmiterů, transport kyslíku, mitochondriální respirace, syntéza a reparace DNA, ochrana buňky či myelinizace. Zásobní železo v mozku je ukládáno především ve formě feritinu jako tzv. bezpečné železo, které je obklopeno protektivními proteiny. Jsou popisovány 2 typy feritinu, protein s těžkým a lehkým řetězcem. Těžký feritin se nachází především v orgánech s vysokou utilizací železa a je schopen efektivně železo uvolňovat. Lehký feritin je naopak spojován s ukládáním železa. Pokud dojde k poškození protektivních molekul feritinu nebo se zvýší podíl volného železa v důsledku nedostatku feritinu v buňkách, projeví se jeho toxicita. Volné železo působí jako katalyzátor při tvorbě volných radikálů z reaktivních forem kyslíku prostřednictvím Fentonovy reakce, kdy v přítomnosti tranzitních kovů (Fe^{2+}) se H_2O_2 redukuje a vzniká vysoce aktivní a toxický hydroxylový radikál ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{HO}\cdot + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$) (Fenton H.J.H., 1894, Orino K. et al., 2001). Tyto radikály pak vedou k degradaci biomolekul a mohou způsobit apoptózu. Patologická akumulace železa v CNS je spojována s řadou neurologických onemocnění, mezi které patří např. Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, Wilsonova choroba či RS (Schneider S.A. et al., 2013, Dušek P. et al., 2012, Bulk M. et al., 2018, Burgetová A., 2010).

K ukládání železa v mozku dochází i během fyziologického stárnutí mozku. Znalost změn souvisejících s věkem může být nápomocná při detekci některých neurodegenerativních a zánětlivých procesů.

Histopatologické studie provedené postmortem ukázaly, že k nejvyšší akumulaci železa během fyziologického stárnutí dochází v globus pallidus a substantia nigra, dále v nucleus ruber, putamen, ncl. caudatum a ncl. dentatum a v subthalamickém jádru, tedy ve strukturách patřících k extrapyramidovému systému. Thalamus se chová odlišně od těchto struktur. V thalamu se hodnoty susceptibility zvyšují do 4. dekády, ale poté začínají klesat. Výjimkou je pulvinar thalami, ve kterém dochází ke zvyšování susceptibility v průběhu celého života (Hallgren B., 1958, Fiehring H., 1986).

V oblasti kortexu dochází k nejvyššímu ukládání železa s věkem v oblastech souvisejících s motorickými funkcemi (Hallgren B., 1958).

6. Hodnocení akumulace železa v mozku pomocí MR

Pokročilé MR techniky citlivé na železo mají schopnost in vivo neinvazivně kvantifikovat množství železa v mozku. Mezi tyto techniky se řadí T2 relaxometrie ($R2^*$), zobrazování korelace magnetického pole, fázové zobrazování a kvantitativní mapování susceptibility (QSM) (Langkammer C. et al., 2010, Khalil M. et al., 2009).

Měření železa má význam nejen pro diagnostické účely, ale také pro hodnocení progresu, zejména, pokud se železo podílí na patofyziologii onemocnění nebo koreluje se stavem nemoci.

V případě RS je nejvhodnější kvantitativní technikou pro stanovení železa QSM, která je v porovnání s mapováním $R2^*$ citlivější na změny tkáně související s RS. Magnetickou susceptibilitu mozkové tkáně totiž neurčuje pouze paramagnetický příspěvek feritinu s obsahem železa, ale také protichůdný diamagnetický příspěvek myelinu (Liu C. et al., 2011, Landkammer C. et al., 2012). V případě QSM je vliv akumulace železa a demyelinizace (oba důležité patofyziologické procesy u RS) aditivní (oba způsobují pozitivní zvýšení magnetické susceptibility), zatímco při mapování $R2^*$ mají opačné účinky (demyelinizace snižuje rychlost $R2^*$, zatímco ukládání železa zvyšuje $R2^*$) (Langkammer C. et al., 2012).

6.1. Magnetická susceptibilita mozkové tkáně

Magnetická susceptibilita je fyzikální veličina, která popisuje změnu magnetizace materiálu v odezvě na vnější magnetické pole. Je závislá na materiálu, její hodnoty mohou být jak pozitivní, tak negativní v závislosti na tom, zda se magnetizace materiálu vyrovnává s vnějším polem nebo proti němu. Vzhledem k tomu, že se mozková tkáň skládá ze 70-85 % z vody, má velmi slabou susceptibilitu. Pohybuje se v hodnotách od -9,2 do -8,8 ppb. Železo má výrazně vyšší hodnoty susceptibility, proto jeho ukládání v různých oblastech mozku hodnoty susceptibility mozkové tkáně výrazně mění.

Podle hodnoty magnetické susceptibility lze látky rozdělit na:

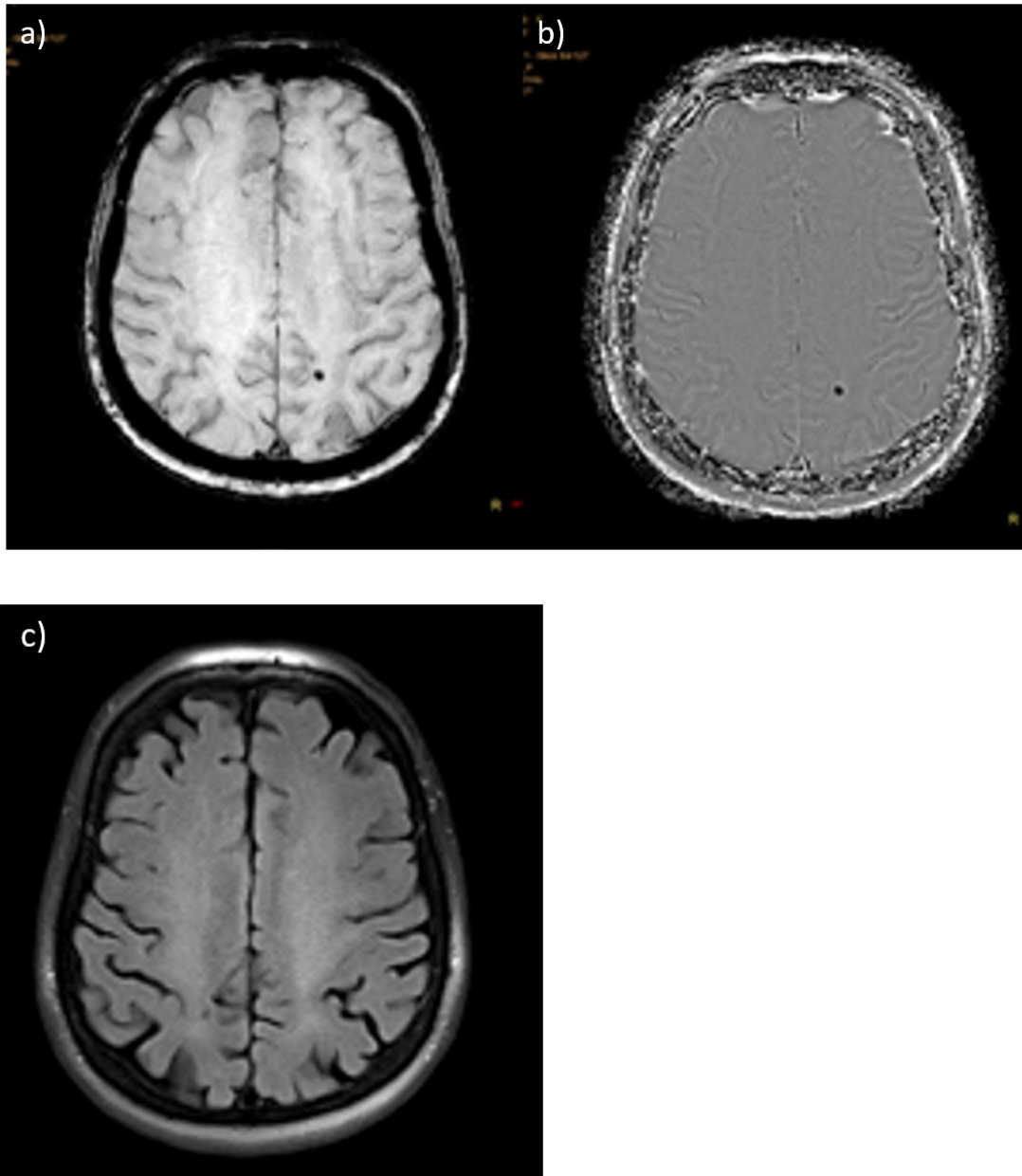
- Paramagnetické – deoxyhemoglobin, feritin, hemosiderin
- Diamagnetické – kostní minerály, kalcifikace
- Feromagnetické

6.2. SWI sekvence

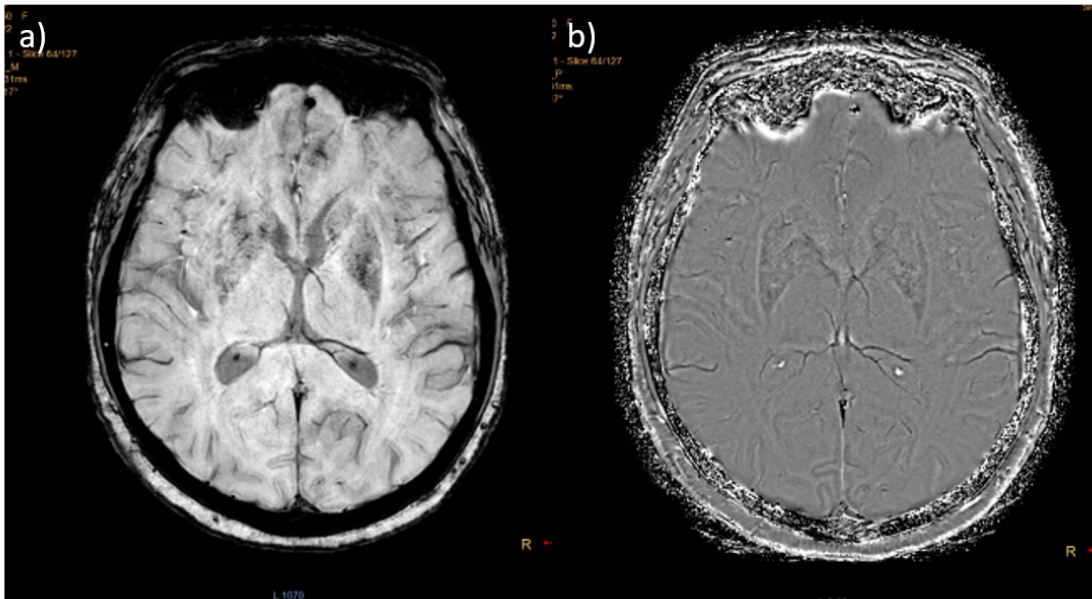
Sekvencí používanou na zobrazení paramagnetických a diamagnetických látek je SWI (susceptibility weighted image). Jde o sekvenci užívanou zejména k průkazu drobných krvácení

díky paramagnetickým vlastnostem deoxyhemoglobin, feritinu či hemosiderinu. Dokáže zřetelně odlišit oblasti s okysličeným a neokysličeným hemoglobinem. Její využití je však výrazně širší a pojme širokou škálu patologií jako jsou změny při neurodegenerativních onemocněních mozku jako Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba či RS.

Susceptibilně vážený obraz (SWI) vzniká kombinací obrazu absolutní hodnoty (magnitudy) a fázového zobrazení. Fázové obrazy představují lokální změny frekvence způsobené lokálními změnami magnetického pole, které jsou způsobeny přítomností magnetického zdroje. Právě fázové zobrazení dokáže odlišit paramagnetické a diamagnetické látky (obr. 10,11).



Obr. 10: Reziduum drobného krvácení na SWI sekvencích – a) magnituda b) fáze c) nenápadný drobný korelát na FLAIR



Obr. 11 : Kalcifikace v choroidálním plexu na SWI – a) magnituda b) fáze

6.3. Kvantitativní mapování citlivosti – QSM (quantitative susceptibility mapping)

Kvantitativní mapování citlivosti slouží pro kvantifikaci prostorové distribuce magnetické susceptibilitity.

Na základě komplexních dat ze skenů SWI je možné vytvořit obrazy magnetických zdrojů pomocí rekonstrukční metody, která využívá fázová data a rekonstruuje tzv. kvantitativní mapu susceptibilitity (QSM). Ta poskytuje kvantitativní odhady lokální magnetické susceptibilitity na úrovni voxelu (obr.12-14).

Hlavní předností QSM ve srovnání s tradičními zobrazovacími technikami citlivými na susceptibilitu je, že odděluje lokální magnetické pole od nelokálních příspěvků řešením komplexního problému inverze pole ke zdroji (Haacke E.M. et al., 2015).

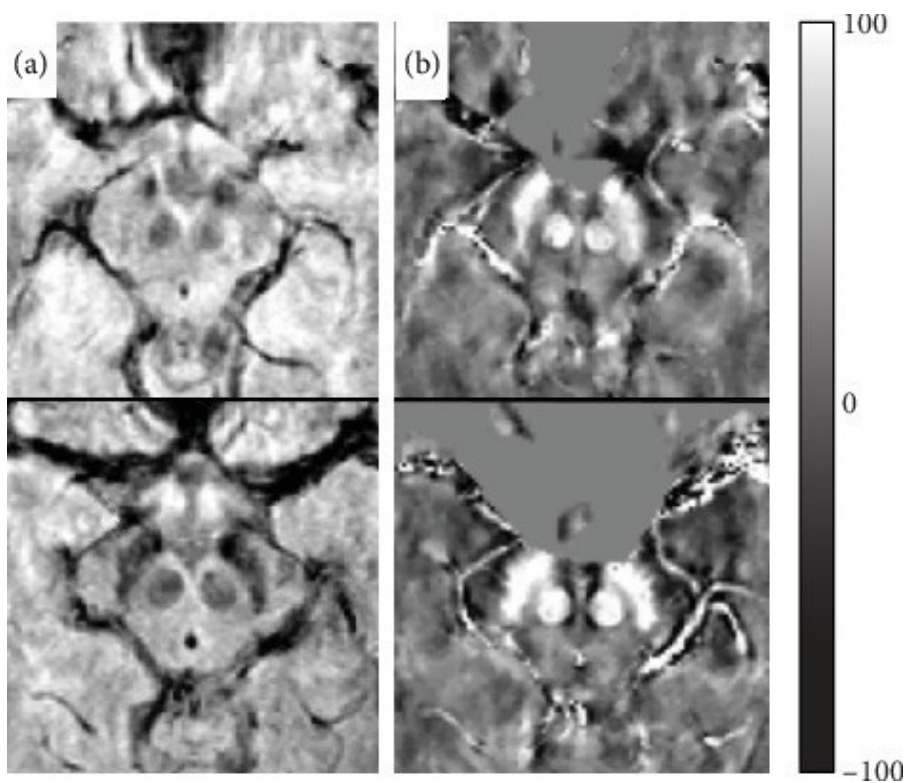
Tato metoda je přímým odrazem molekulárního složení a buněčné architektury tkáně. V porovnání s ostatními technikami poskytuje pro určité tkáně a struktury lepší poměr kontrastu k šumu.

QSM zejména v případě RS spolehlivěji kvantifikuje změny obsahu železa ve strukturách hluboké šedé hmoty díky menšímu rušivému vlivu myelinu a téměř absenci jiných paramagnetických kovů (Langkammer C. et al., 2012). Oproti tomu v bílé hmotě mohou být změny magnetické susceptibilitity měřené pomocí QSM důsledkem změn jak myelinu, tak i

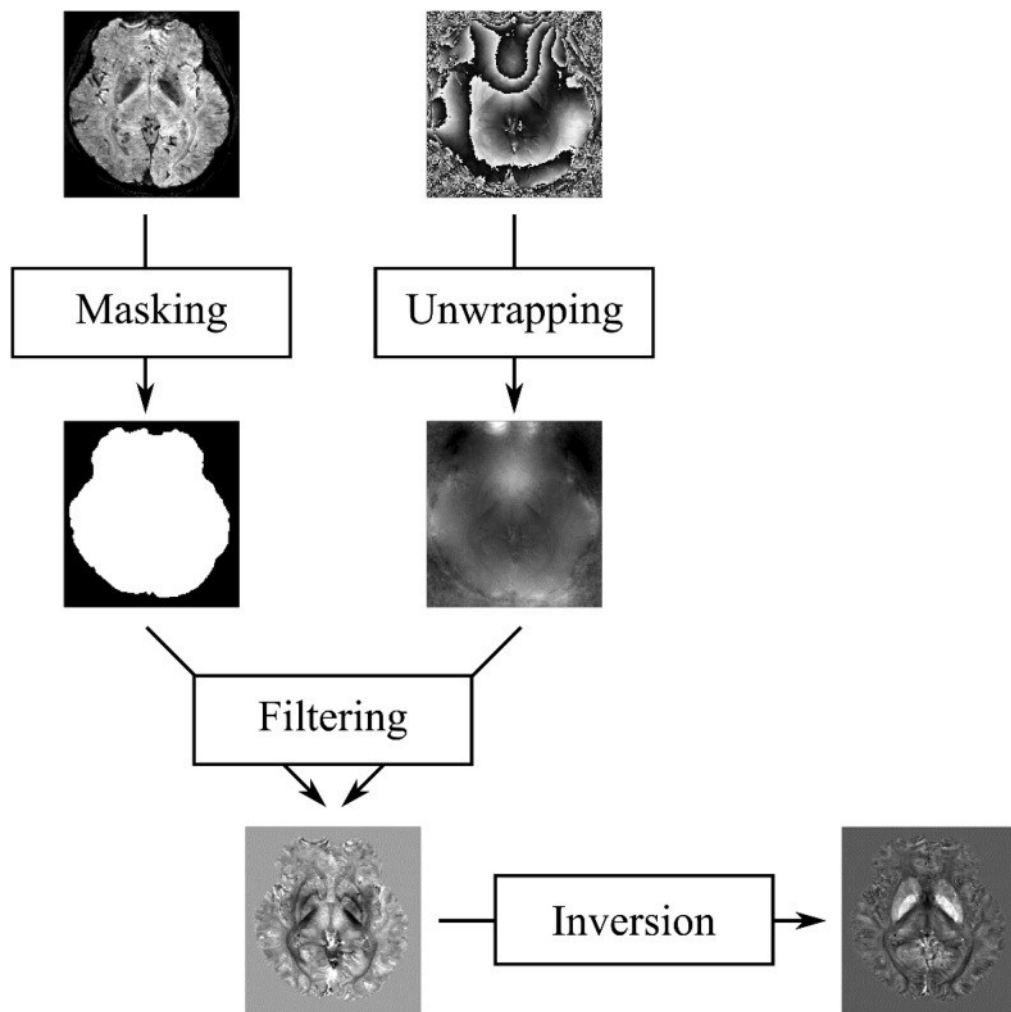
železa. V bazálních gangliích vzniká zvýšená magnetická susceptibilita s největší pravděpodobností v důsledku zvýšení obsahu železa, zatímco zvýšení v bílé hmotě může být důsledkem jak zvýšení obsahu železa, tak snížení obsahu myelinu (demyelinizace) nebo obojího (Hametner S. et al., 2018).

Aby bylo možné určit, zda změny magnetické susceptibility svědčí o změnách obsahu železa, je třeba vzít v úvahu oblast mozku, kde jsou tyto změny pozorovány (bílá vs. šedá hmota), a také patofyziologické procesy probíhající u jednotlivých neurodegenerativních onemocněních.

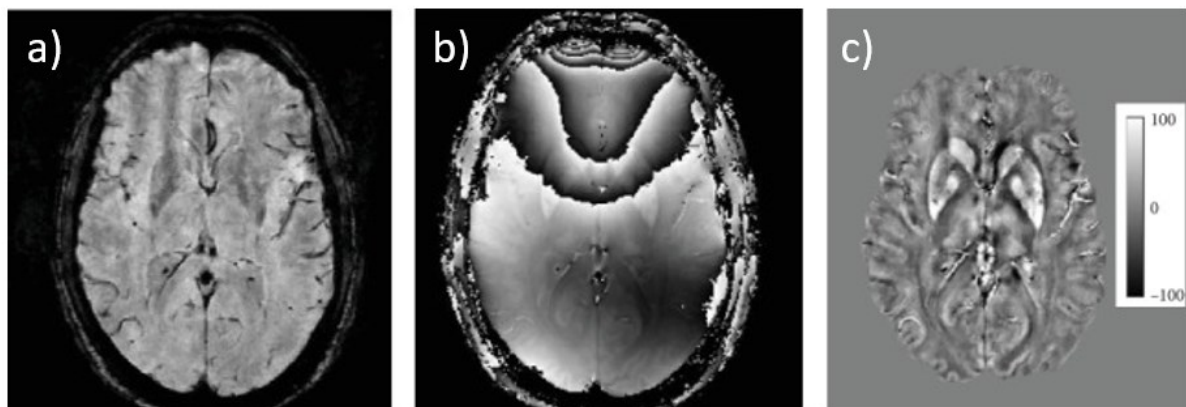
Pro tvorbu QSM map jsou používány multi GRE sekvence, které využívají toho, že jsou fázové posuny primárním výsledkem nehomogenity pole. Je nutno použít GRE sekvence s více echy, protože jedno echo by nedokázalo optimálně reflektovat změnu magnetického pole všech tkání. Dále je nutno izolovat fázový posun způsobený susceptibilitou, a ne pouze chemickým posunem či polem cívky.



Obr. 12: Axiální snímky v úrovni mezencefala, multiGRE sekvence (a), QSM (b), v horní části snímky zdravé kontroly, v dolní části postižení při NMO s hypointenzí substantia nigra.



Obr. 13: Vznik QSM mapy (Liu C. et al., 2015)

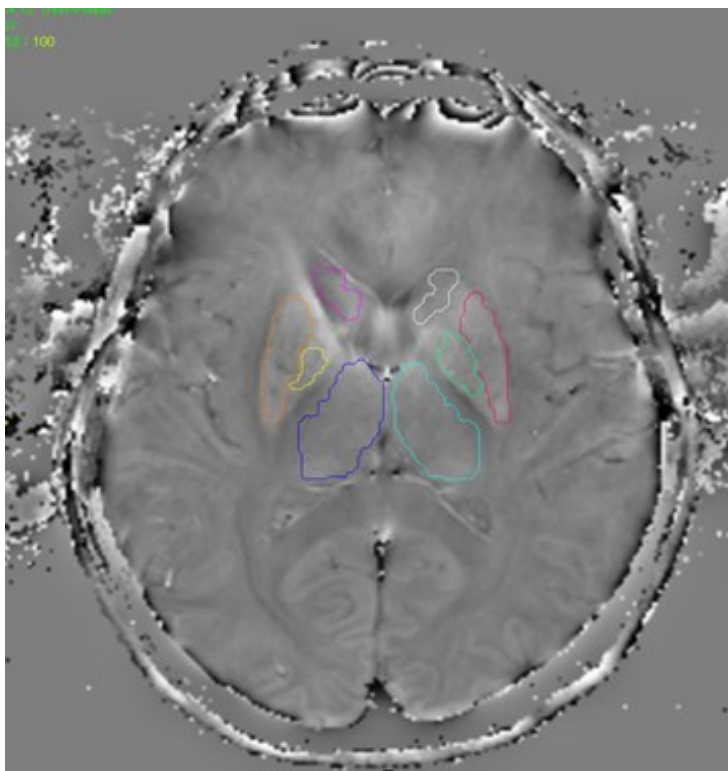


Obr. 14: MR mapování magnetické susceptibilitě v ppb. multiGRE sekvence (a), raw fáze (b), QSM (c)

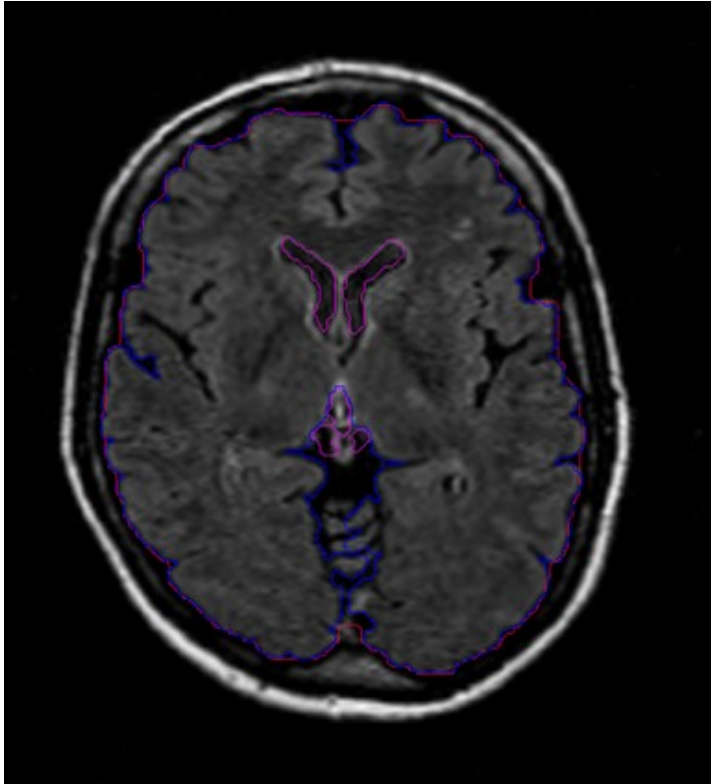
7. Měření atrofie mozku

MR se již dlouho u pacientů s neurologickým onemocněním nevyužívá pouze pro zobrazení patologických ložisek, ale existují postprocesingové techniky, které mohou pomoci v monitorování a v predikci vývoje nemoci. Jednou z těchto technik je volumetrie. Lze ji využít jak k měření celkové atrofie mozku, tak k měření objemu vybraných struktur mozku (např. bazálních ganglií) či objemu patologických ložisek (obr. 15,16).

Pro měření atrofie mozku je možné využít dvě základní techniky – měření průřezové s využitím tzv. segmentačních metod a měření longitudinální pomocí registračních technik. Pro segmentační měření jsou volně dostupné programy SIENAX, FreeSurfer, nebo univerzitní softwarové aplikace např. ScanView.cz, kterým je měřen poměr mozkového parenchymu a objemu mozku včetně likvorových prostor (Brain Parenchymal Fraction – BPF), dále lze využít techniky, které jsou přímo součástí vyšetřovací nebo přídatné konzole (MorphoBox prototyp) (Vaněčková M., 2019). Měření lze provádět na vlastním MR oddělení nebo lze vyšetření zasílat do mezinárodních čtecích center. Pomocí segmentačních programů lze separovat šedou a bílou hmotu a následně měřit objemy jednotlivých anatomických struktur. Základem pro tato měření je definování oblastí s rozdílnou intenzitou signálu. Výzkumným cílem měření objemu jednotlivých anatomických struktur (thalamu, corpus callosum, mozečku či míchy) je snaha o zhodnocení možností predikce klinické progresse onemocnění.



Obr. 15: Volumetrie, vyznačené jednotlivé oblasti zájmu pro měření (Region of Interest, ROI)



Obr. 16: Měření objemu mozku, vymezena zájmová oblast a artefakty z proudění moku

8. Mapování ukládání železa v mozku u pacientů s NMO a RS. Cíle práce

RS a NMO se často projevují obdobnými příznaky a jejich odlišení může být velmi obtížné. Přitom správná diagnóza je velmi důležitá především z terapeutického hlediska, protože se léčebné postupy u NMO a RS výrazně liší.

Cíle práce: Hlavním cílem studie bylo porovnat obsah železa v centrální šedé hmotě u pacientů s RS, NMO a zdravých kontrol pomocí QSM a zjistit, zda lze na základě rozdílu obsahu železa přispět k diferenciaci obou onemocnění.

Sekundárním cílem bylo zjistit korelaci mezi ukládáním železa a klinickou závažností a posoudit regionální atrofii hluboké šedé hmoty (DGM) pomocí volumetrické analýzy u obou skupin pacientů.

8.1. Metodika

V rámci tohoto výzkumu bylo na oddělení magnetické rezonance RDG kliniky 1.LF UK a VFN vyšetřeno 40 pacientů s relaps-remitentní RS (RRRS) a 20 pacientů s NMO. Současně byla hodnocena v odpovídající kategorii věku a pohlaví také skupina 20 zdravých kontrol. Všichni pacienti s RRRS splňovali revidovaná McDonaldova kritéria, diagnóza NMO byla založena na

Wingerchukových kritériích. Všechny 20 pacientů s NMO mělo pozitivní AQP4-IgG. Všechny vzorky byly testovány komerčně dostupným imunofluorescenčním testem (CBA) s použitím rekombinantní lidské M1-AQP4. Všichni pacienti současně podstoupili vyšetření specialistou na demyelinizační onemocnění. Neurologické postižení bylo hodnoceno Kurtzkeho stupnicí stavu postižení (EDSS).

8.2. Demografická analýza vyšetřovaného souboru

Ve všech hodnocených skupinách byl stejný poměr mužů a žen, 20 % mužů, 80 % žen. Velmi obdobné bylo i věkové složení všech skupin. Průměrný věk pacientů s NMO byl 48 let (± 10), pacientů s RS 47 let (± 9) a zdravých jedinců v kontrolní skupině 50 let (± 8).

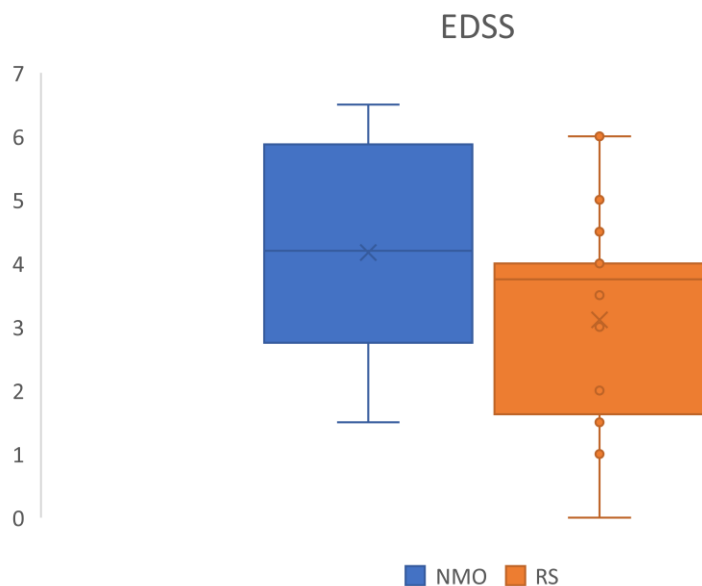
Průměrné trvání nemoci bylo v době vyšetření u pacientů s NMO $11,4 \pm 8,7$ let, u pacientů s RS $14,1 \pm 8,2$ let.

Míra neurologického postižení hodnocená škálou EDSS byla u pacientů s NMO $4,5 \pm 1,2$ bodů, u pacientů s RS $3,1 \pm 1,6$ bodů. Pacienti v kontrolní skupině byli zcela bez neurologického postižení.

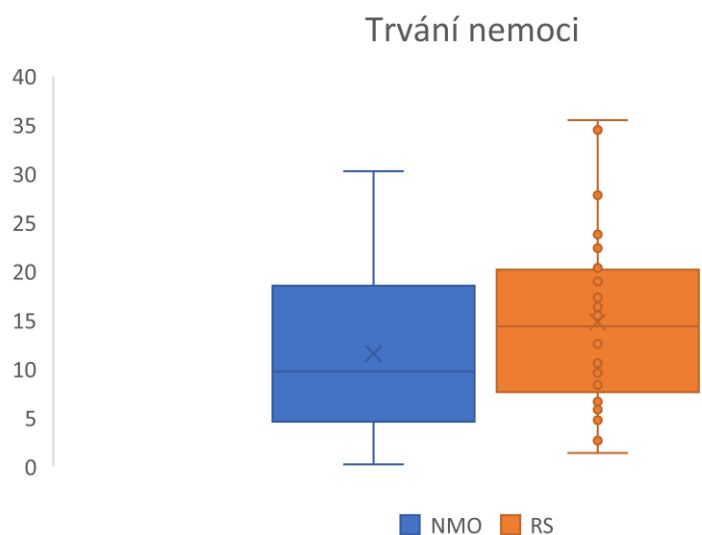
Větší roční míru relapsů vykazovala skupina s NMO s mediánem 0,5 (0-3). Ve skupině pacientů s RS tato hodnota nabývala hodnoty 0,0 s rozptylem hodnot 0-2 (tab. 4).

Tab. 4: Demografická charakteristika vyšetřovaných souborů

Skupina	NMO	RS	Kontrolní skupina	p
Počet	20	40	20	-
Pohlaví M/Ž	4/16	8/32	4/16	1,0
Věk (roky)	48 \pm 10	47 \pm 9	50 \pm 8	0,54
Trvání nemoci (roky)	11,4 \pm 8,7	14,1 \pm 8,2	-	0,25
EDSS (body)	4,5 \pm 1,2	3,1 \pm 1,6	0,0 \pm 0,0	<0,0001
Roční míra relapsů	0,5(0-3)	0,0(0-2)	-	0,058



Obr. 17: Míra neurologického postižení u obou skupin pacientů



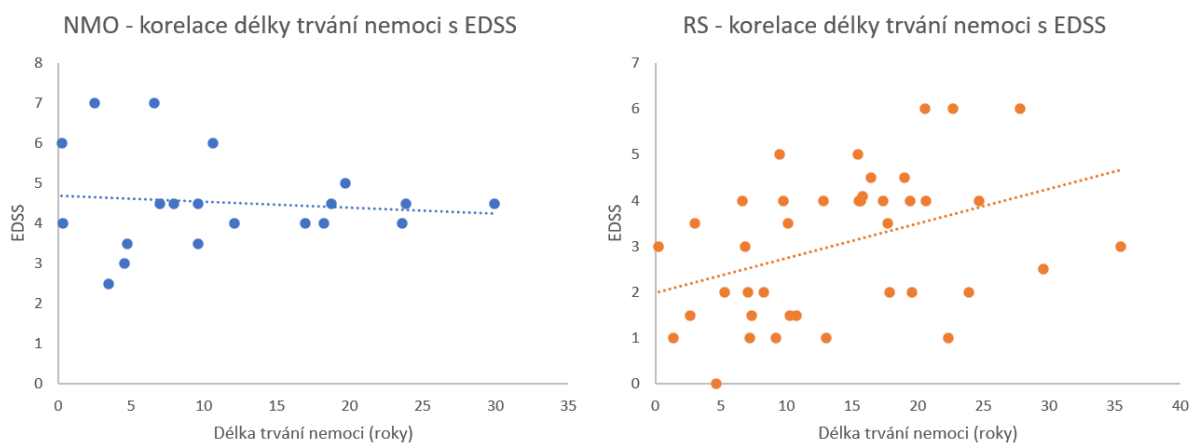
Obr. 18: Trvání nemoci u obou skupin pacientů v době vyšetření (v letech)

Dále byla zjišťována souvislost míry neurologického postižení a délky trvání nemoci u obou skupin pacientů. U pacientů s NMO nebyla nalezena žádná souvislost mezi mírou neurologického postižení (hodnocenou EDSS) a trváním nemoci. Oproti tomu u pacientů s RRRS se ukazuje mezi mírou postižení a trváním nemoci pozitivní korelace ($r_s=0,41$, $p=0,0086$, tab. 5, obr. 19), s délkou trvání nemoci se tedy u této skupiny pacientů míra postižení zvyšuje.

Tab. 5: Korelace trvání nemoci a EDSS u pacientů NMO a RS

	NMO	RS
r_s	0,048	0,41
p	0,842	0,0086

r_s – Spearmanův korelační koeficient



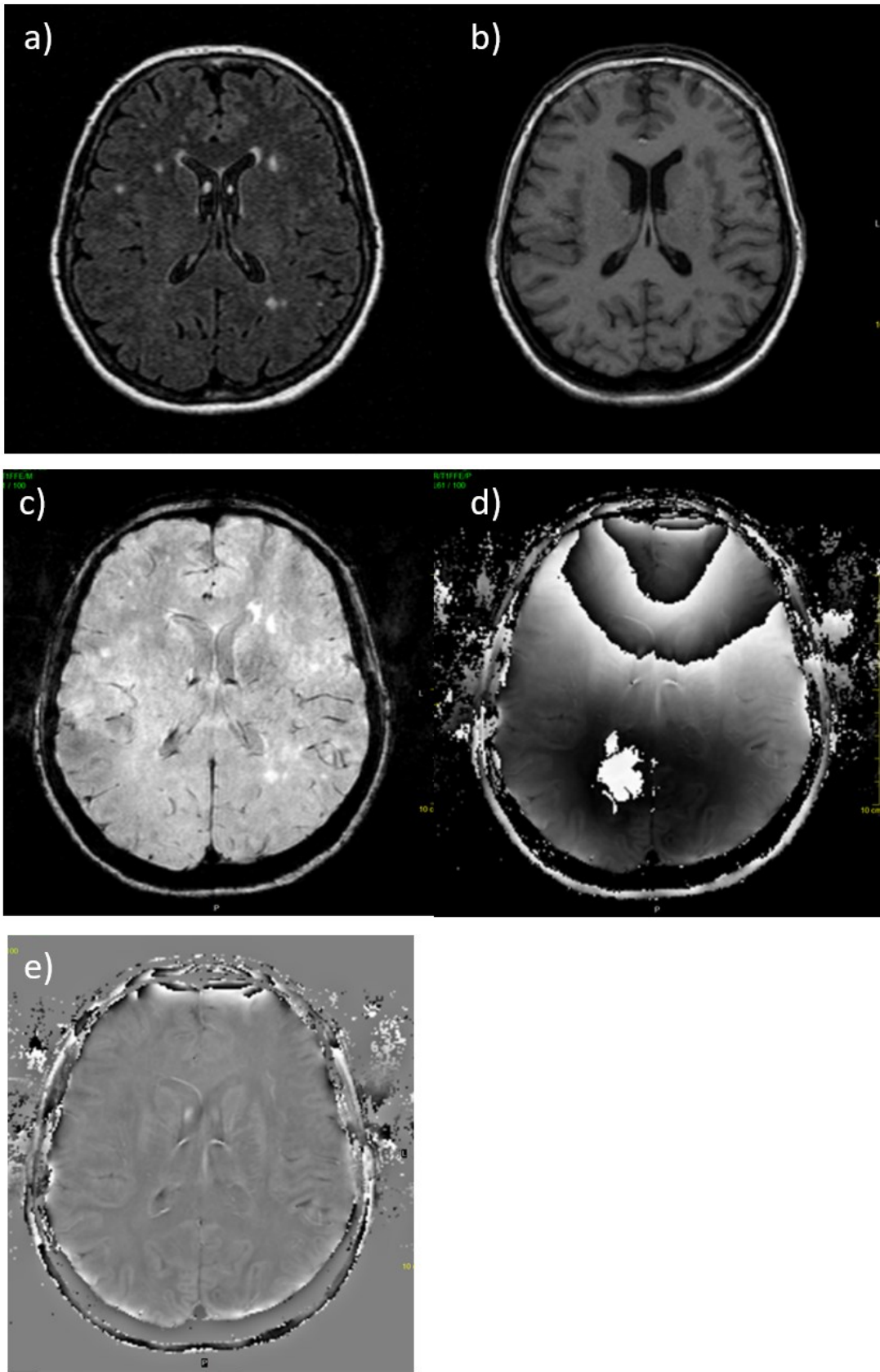
Obr. 19: Korelace trvání nemoci a EDSS u obou skupin pacientů

8.3. MR vyšetření

U všech pacientů bylo provedeno na našem pracovišti od prosince 2013 do března 2015 MR vyšetření mozku.

Vyšetření byla provedena na MR přístroji Gyroscan NT, 1,5T, Philips Healthcare Best s použitím standardní kvadratické hlavové cívký. Vyšetřovací protokol zahrnoval tyto sekvence (obr. 20):

- FLAIR - 150 axiálních řezů, TR 11000 ms, TE 140 ms, TI 2600 ms, prostorové rozlišení 1x1x1mm³, délka vyšetření 10 min a 16 s
- T1W FFE/3D, 150 axiálních řezů, TR 25 ms, TE 5.01 ms, prostorové rozlišení 1x1x1mm³, délka vyšetření 12 min a 48 s
- SWI FFE/3D, 100 axiálních řezů, TR 48.1 ms, TE 33.2 ms, prostorové rozlišení 0,8x0,8x2 mm³, délka vyšetření 6 min a 30 s, pulsní sekvence



Obr. 20: Protokol vyšetření: a) FLAIR b) T1W c) SWI magnituda d) SWI raw fáze e) filtrované fázové zobrazení

8.4. Obrazová analýza

QSM byly rekonstruovány z 3D multiGRE. Rekonstrukce QSM byla založena na metodě „total-generalized-variation“, která zahrnuje následující individuální kroky v jediné iteraci, jak popsali ve své publikaci C.Langkammer et al. (2015) :

- Rozvinutí fázového pole s využitím Laplaceova operátoru („Laplacian phase unwrapping“)
- odstranění pozadí
- nelineární dipólová inverze

Následně byly QSM namapovány na T1W obrazy.

Pomocí programu FreeSurfer, version 4.5 (harvard.edu) (obr. 21) byla provedena automatická segmentace struktur:

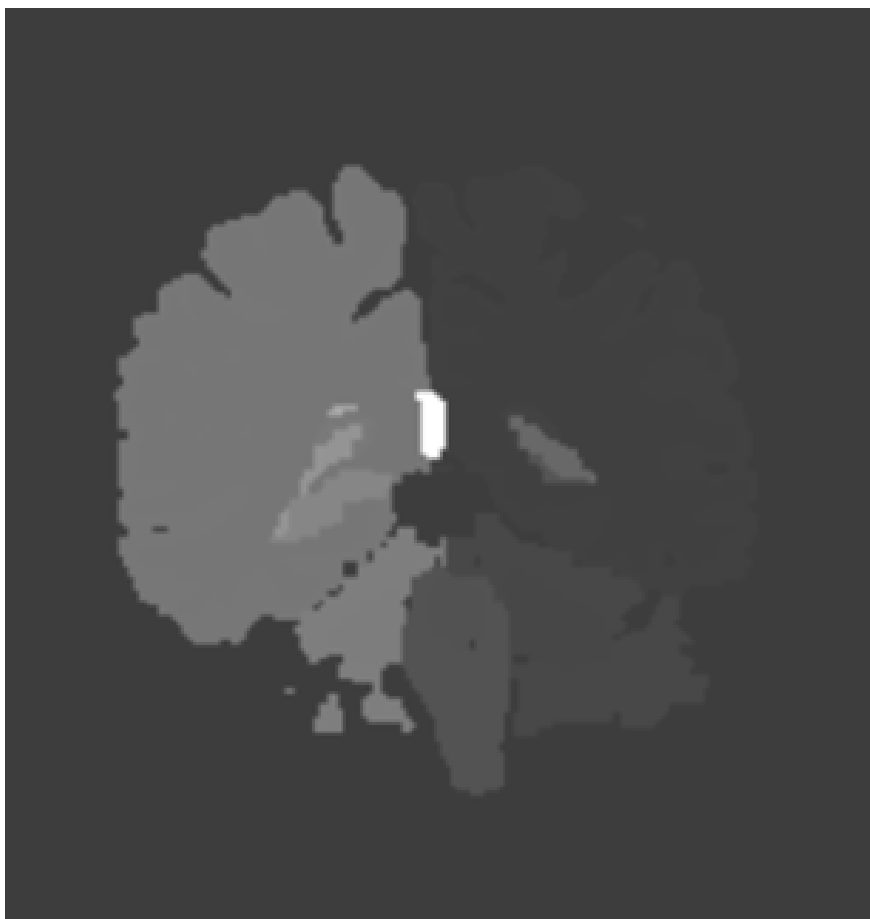
Globus pallidus
Putamen
Nucleus caudatus
Thalamus

Manuálně byly na anonymizovaných snímcích QSM segmentovány struktury, které nelze v T1W dobře diferencovat:

Pulvinar thalami
Nucleus ruber
Substantia nigra

Manuální segmentace byla prováděna atestovaným lékařem, který neznal primární diagnózu pacienta.

Ve všech segmentovaných strukturách bylo provedeno měření objemu (ml) a byly extrahovány průměrné hodnoty objemových susceptibilit v jednotkách parts per billion (ppb). Hodnoty QSM byly upraveny podle manuálně nakresleného region of interest (ROI) v okcipitální bílé hmotě s vyloučením jakýchkoli lézí. Objem mozkových struktur byl normalizován pomocí metody reziduálního přístupu, která využívá lineární regresi mezi objemem struktury a mozkovým obalem (Voevodskaya O. et al, 2014)



Obr. 21: Segmentace pomocí programu Freesurfer

8.5. Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena za použití statistického a analytického softwaru SPSS19 (IBM corp., Armonk, NY) a softwaru R (the R foundation for Statistical Computing, Vienna, Rakousko). Porovnání skupin bylo provedeno s využitím funkce MatchIt v softwaru R. Pro testování statistické významnosti mezi jednotlivými skupinami studie byly použity ANOVA, Tukyevův HSD test, Kruskalův-Wallisův test, Dunnův post hoc test a vhodný χ^2 .test. Korelace mezi EDSS a QSM byly vyjádřeny Spearmanovým korelačním koeficientem. Za signifikantní byly považovány hodnoty p pod 0,05.

8.6. Výsledky

8.6.1. Porovnání susceptibility u pacientů s NMO, RRRS a zdravými kontrolami

Hodnoty magnetické susceptibility v jednotlivých strukturách jsou uvedeny v tabulce 6. Z výsledků vyplývá, že v hodnocených souborech došlo k signifikantnímu rozdílu v naměřených hodnotách susceptibility v substantia nigra a thalamu. Pacienti s NMO mají ve srovnání se zdravými kontrolami vyšší hodnoty magnetické susceptibility v substantia nigra (NMO $107,2 \pm 19,7$, zdravé kontroly $91,0 \pm 16,1$, $p = 0,030$), v porovnání s RRRS tyto hodnoty signifikantně zvýšené nejsou ($95,3 \pm 21,6$, $p = 0,081$).

V thalamu byla zjištěna snížená susceptibilita u pacientů s RS ($10,8 \pm 5,6$) v porovnání s oběma dalšími skupinami, NMO ($16,3 \pm 6,3$, $p = 0,0086$), zdravé kontroly ($16,1 \pm 8,2$, $p = 0,011$).

Ve všech dalších vyšetřovaných oblastech signifikantní změny magnetické susceptibility nalezeny nebyly.

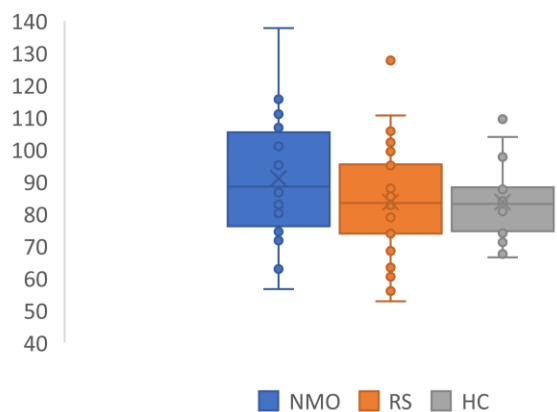
Tab. 6.: Průměrná magnetická susceptibilita (ppb) v jednotlivých strukturách v hluboké šedé hmotě

	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO	91,0±19,2	71,7±17,8	36,9±11,2	37,6±11,2	26,5±10,1	107,2±19,7	16,3±6,3
RS	83,6±16,1	66,6±19,5	39,3±10,8	32,9±14,5	30,3±11,7	95,3±21,6	10,8±5,6
Zdravé kontroly	83,7±11,1	67,4±17,4	41,1±10,1	35,7±13,4	30,7±7,4	91,0±16,1	16,1±8,2
p	0,21	0,60	0,59	0,44	0,34	0,030	0,0019

Tab. 7: Průměrná magnetická susceptibilita - post hoc testy

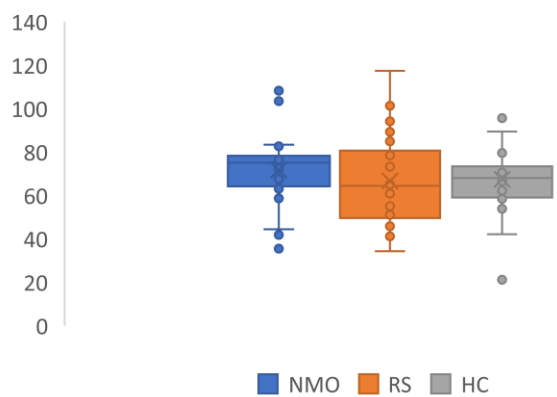
	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
HC - NMO	0,32	0,73	0,59	0,793	0,409	0,032	0,90
HC- RS	0,899	0,899	0,899	0,82	0,899	0,69	0,011
NMO-RS	0,215	0,577	0,669	0,414	0,374	0,081	0,0086

Magnetická susceptibilita v globus pallidus



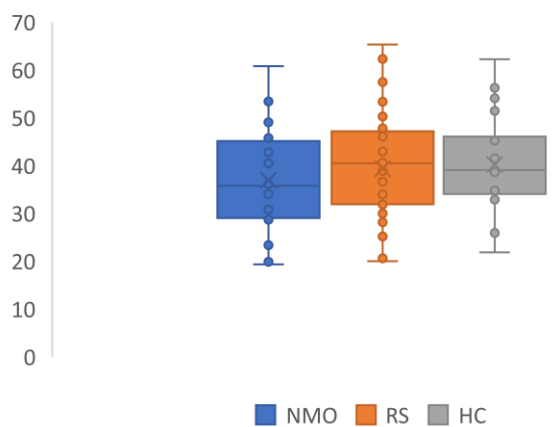
Obr. 22: Porovnání magnetické susceptibilita v globus pallidus u všech hodnocených skupin pacientů.

Magnetická susceptibilita v nucleus ruber



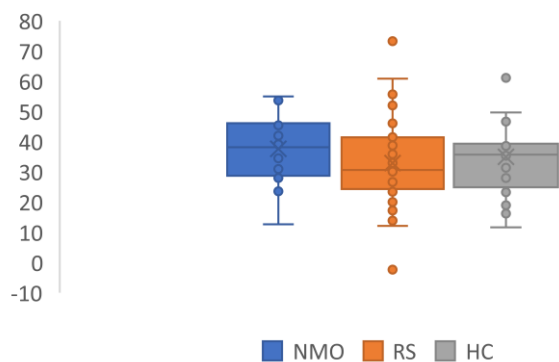
Obr. 23: Porovnání magnetické susceptibilita v nucleus ruber u všech hodnocených skupin pacientů.

Magnetická susceptibilita v nucl. caudatus



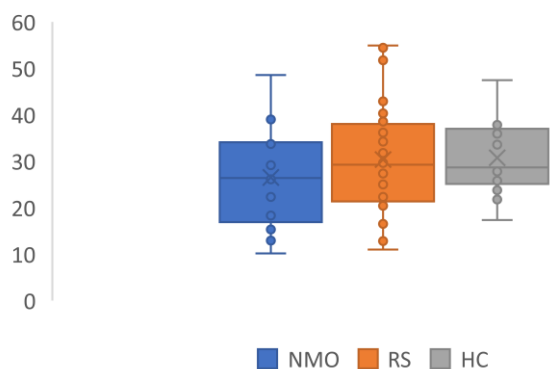
Obr. 24: Porovnání magnetické susceptibilita v nucleus caudatus u všech hodnocených skupin pacientů.

Magnetická susceptibilita v pulv. thalami



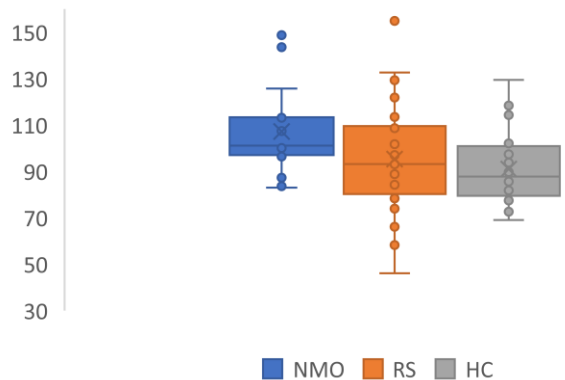
Obr. 25: Porovnání magnetické susceptibility v pulvinar thalami u všech hodnocených skupin pacientů.

Magnetická susceptibilita v putamen



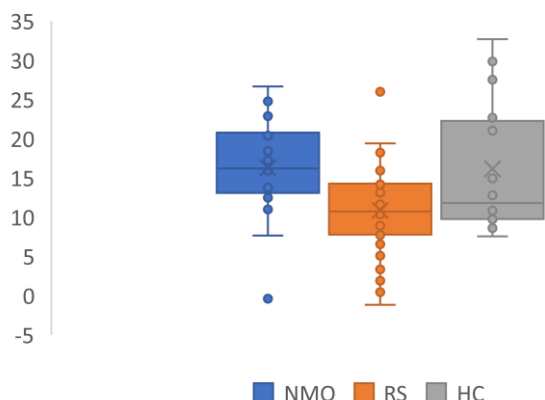
Obr. 26: Porovnání magnetické susceptibility v putamen u všech hodnocených skupin pacientů.

Magnetická susceptibilita v substantia nigra



Obr. 27: Porovnání magnetické susceptibility v substantia nigra u všech hodnocených skupin pacientů.

Magnetická susceptibilita v thalamu



Obr. 28 : Porovnání magnetické susceptibility v thalamu u všech hodnocených skupin pacientů

8.6.2. Porovnání objemu struktur hluboké šedé hmoty u pacientů s NMO, RRRS a zdravými kontrolami

Zjištěné průměrné hodnoty objemu struktur hluboké šedé hmoty jsou uvedeny v tabulce 8. Z výsledků je patrné, že se naměřené hodnoty objemů hodnocených struktur u pacientů s NMO od zdravých kontrol neliší. U pacientů s RRRS byl naměřen signifikantně menší objem thalamu ($13,38 \pm 1,24$ ml) v porovnání s NMO ($14,22 \pm 1,21$ ml, $p=0.023$) a zdravými kontrolami ($14,32 \pm 0,73$ ml, $p=0.0094$). Signifikantní snížení objemu u pacientů s RRRS v porovnání s NMO a HC bylo zaznamenáno i u pulvinaru thalamu, kde dosahovaly naměřené hodnoty průměrného objemu u RRRS ($1,07 \pm 0,61$ ml), oproti NMO ($1,54 \pm 0,35$ ml, $p=0,0023$) a HC ($1,46 \pm 0,31$ ml, $p=0,0136$). Další strukturou se signifikantním snížením objemu u pacientů s RRRS v porovnání s NMO a HC bylo putamen, kde byl naměřen u s RRRS průměrný objem $9,20 \pm 0,91$ ml oproti NMO ($10,02 \pm 0,75$ ml, $p=0,0079$) a HC ($9,94 \pm 0,75$, $p=0,0194$).

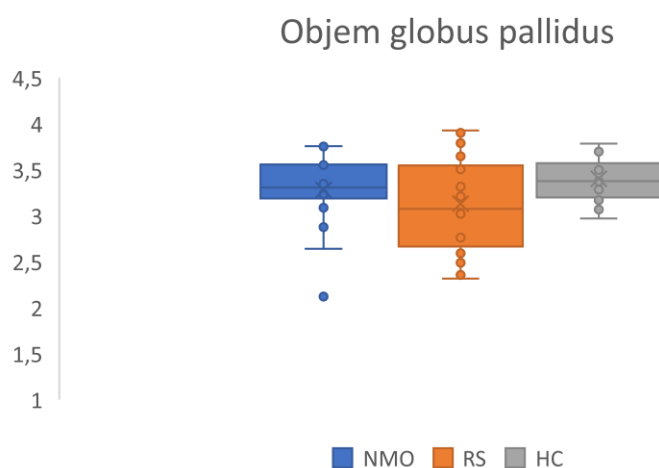
Ve všech dalších měřených strukturách hluboké šedé hmoty se hodnoty objemu výrazněji nelišily.

Tab. 8: Průměrný objem struktur hluboké šedé hmoty (ml)

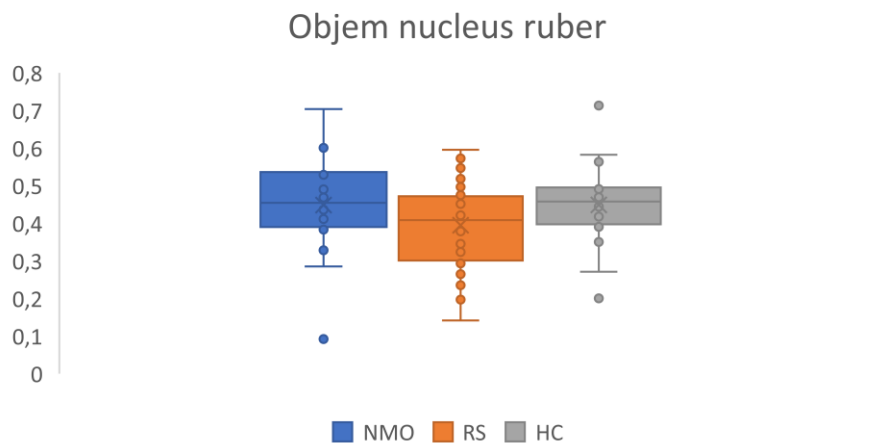
	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO	3,28±0,39	0,45±0,13	6,87±0,60	1,54±0,35	10,02±0,75	0,76±0,18	14,22±1,21
RS	3,13±0,50	0,39±0,11	6,81±0,81	1,07±0,61	9,20±0,91	0,67±0,16	13,38±1,24
Zdravé kontroly	3,40±0,24	0,45±0,11	6,91±0,59	1,46±0,31	9,94±0,75	0,73±0,15	14,32±0,73
p	0,062	0,122	0,864	0,0008	0,0026	0,124	0,0032

Tab. 9: Objem struktury hluboké šedé hmoty – post hoc testy (p hodnoty)

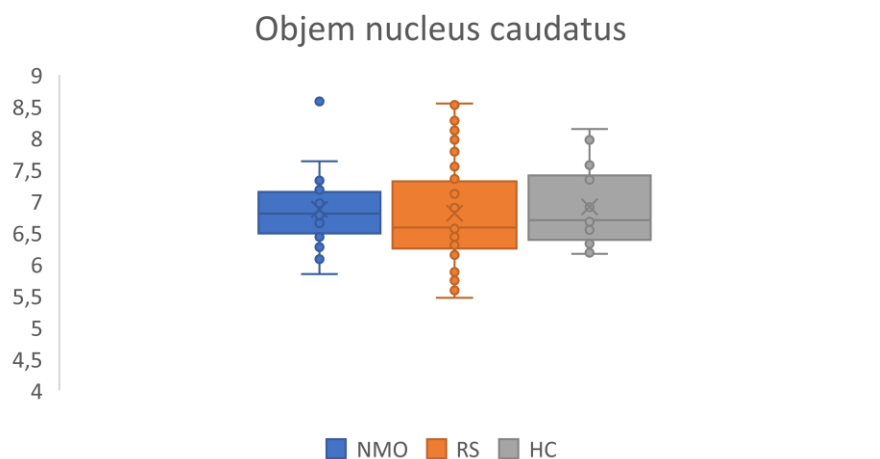
	Pulvinar thalami	Putamen	Thalamus
Kontroly - NMO	0,847	0,900	0,900
Kontroly – RS	0,0136	0,0194	0,0094
NMO-RS	0,0023	0,0079	0,023



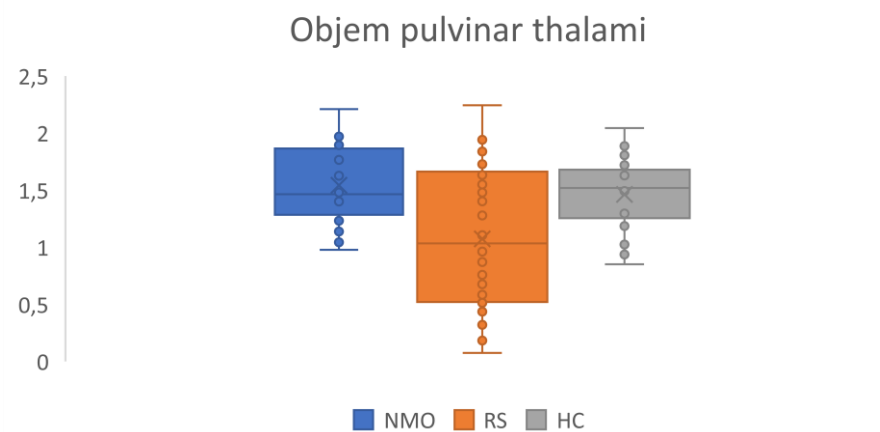
Obr. 29: Porovnání hodnot objemu globus pallidus u všech hodnocených skupin pacientů



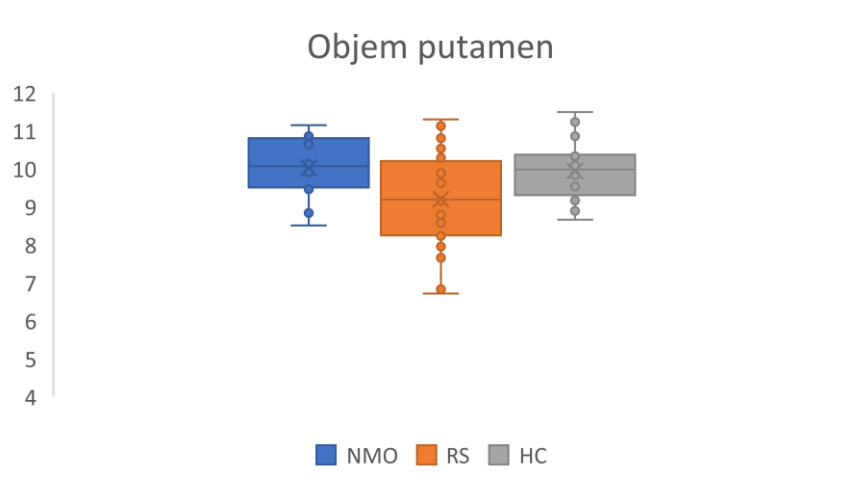
Obr. 30: Porovnání hodnot objemu nucleus ruber u všech hodnocených skupin pacientů



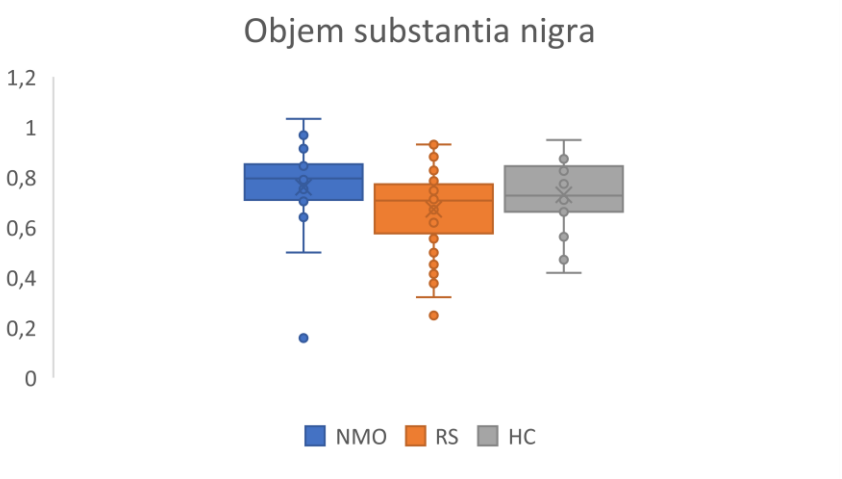
Obr. 31: Porovnání hodnot objemu nucleus caudatus u všech hodnocených skupin pacientů



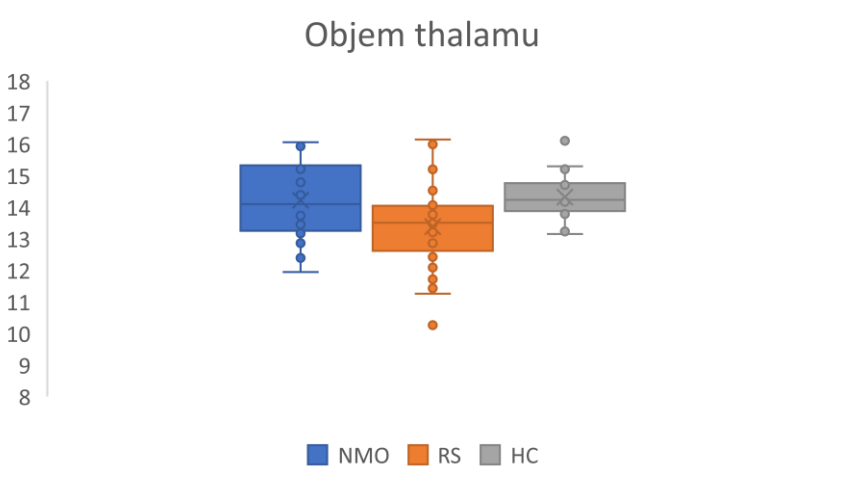
Obr. 32: Porovnání hodnot objemu pulvinar thalami u všech hodnocených skupin pacientů



Obr. 33: Porovnání hodnot objemu putamen u všech hodnocených skupin pacientů



Obr. 34: Porovnání hodnot objemu substantia nigra u všech hodnocených skupin pacientů



Obr. 35: Porovnání hodnot objemu thalamu u všech hodnocených skupin pacientů

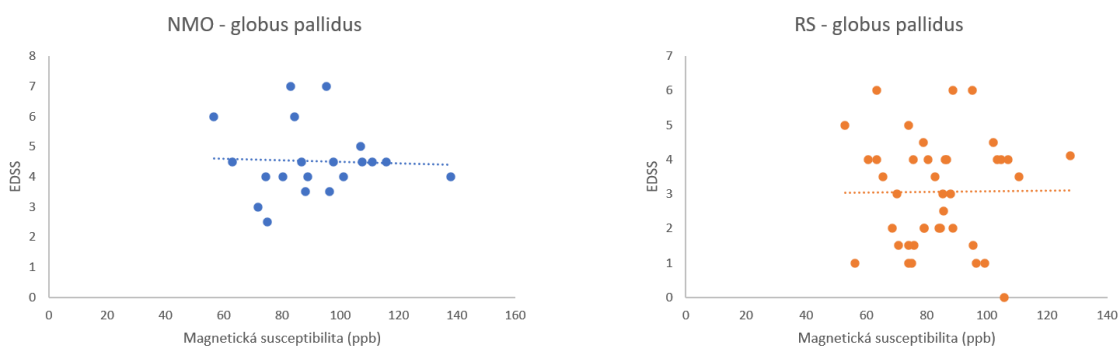
8.6.3. Korelace magnetické susceptibility a EDSS

Jedinou korelací mezi postižením a hodnotami magnetické susceptibility, která byla ve studii prokázána, je slabá korelace postižení a susceptibilitou v putamen u pacientů s RRRS ($r=0,32$, $p=0,046$). Ve všech ostatních lokalizacích u obou skupin pacientů souvislost postižení a susceptibility není patrná (Tab.10, obr. 36-42).

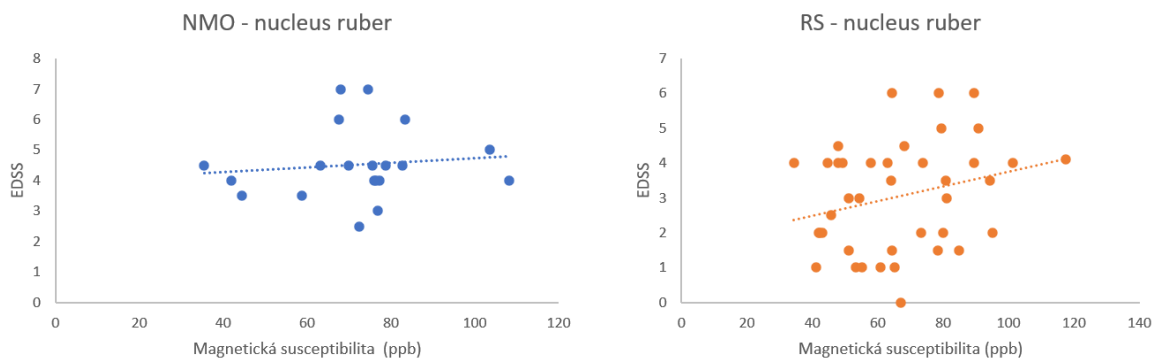
Tab. 10: Korelace EDSS a magnetické susceptibility

	Globus pallidus	Nucelus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO							
r_s	0,077	0,109	0,095	0,062	0,142	0,010	-0,064
p	0,747	0,647	0,692	0,794	0,550	0,967	0,789
RS							
r_s	0,033	0,245	0,215	-0,090	0,317	0,059	0,120
p	0,839	0,128	0,182	0,580	0,046	0,718	0,462

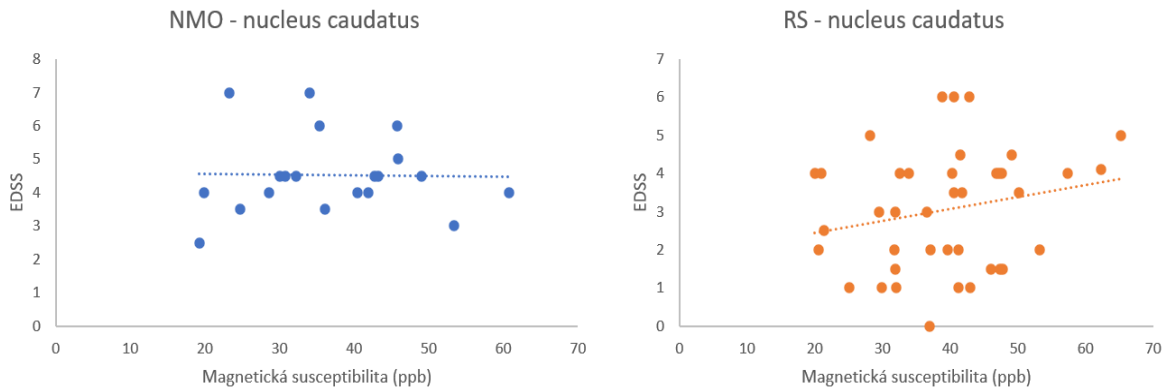
r_s – Spearmanův korelační koeficient



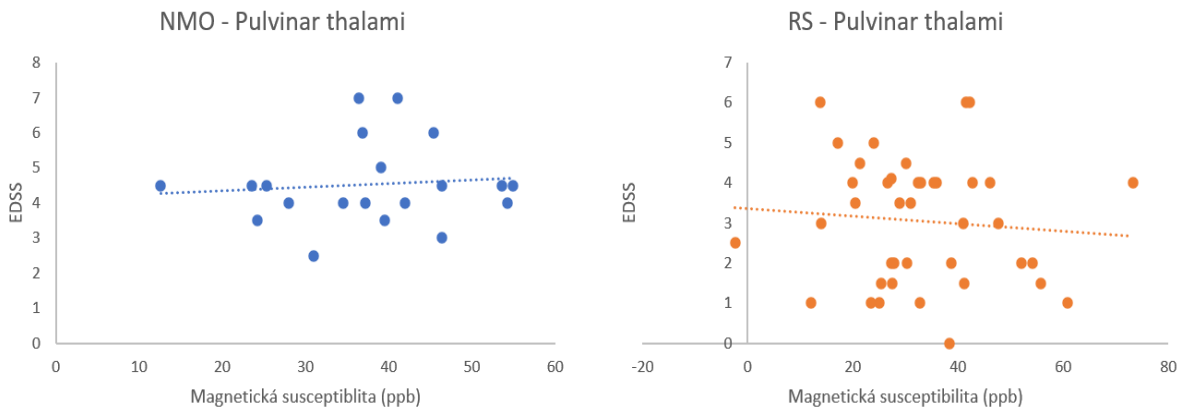
Obr. 36: Korelace magnetické susceptibility a EDSS u pacientů s NMO a RS v globus pallidus.



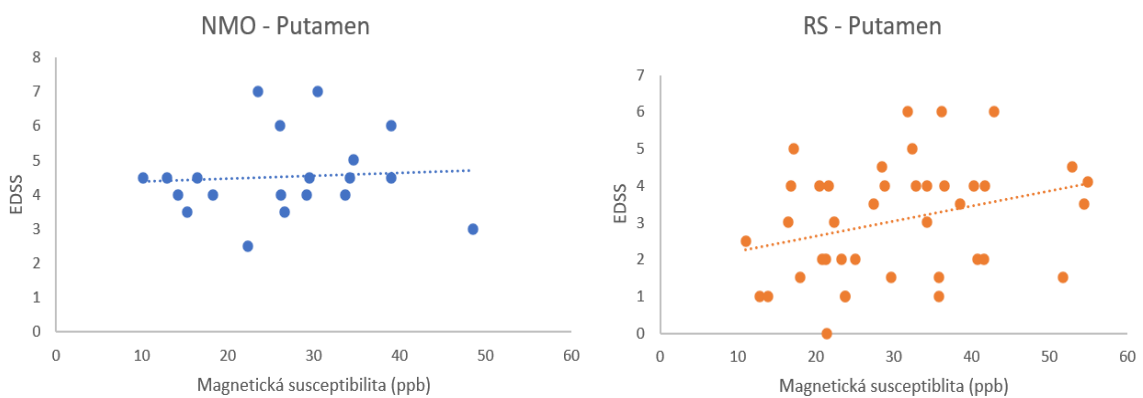
Obr.37: Korelace magnetické susceptibility a EDSS u pacientů s NMO a RS v nucleus ruber.



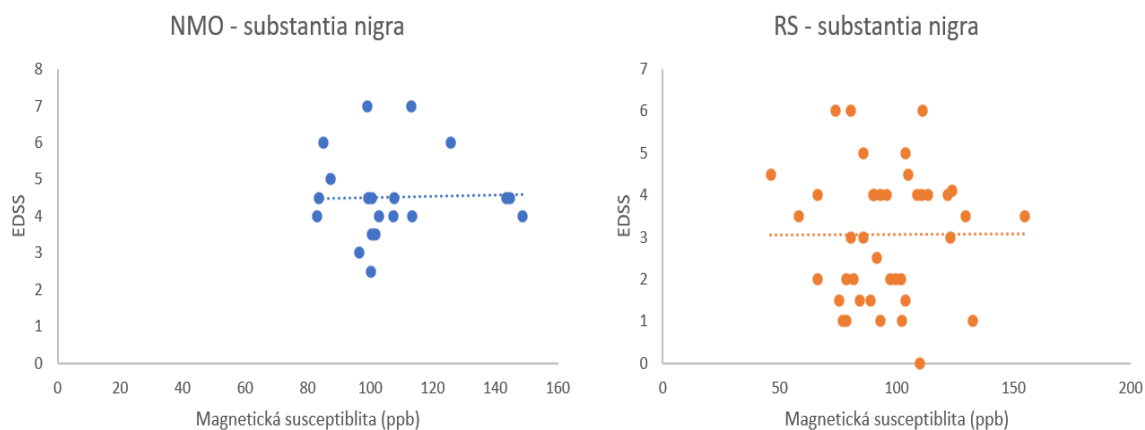
Obr. 38: Korelace magnetické susceptibilita a EDSS u pacientů s NMO a RS v nucleus caudatus.



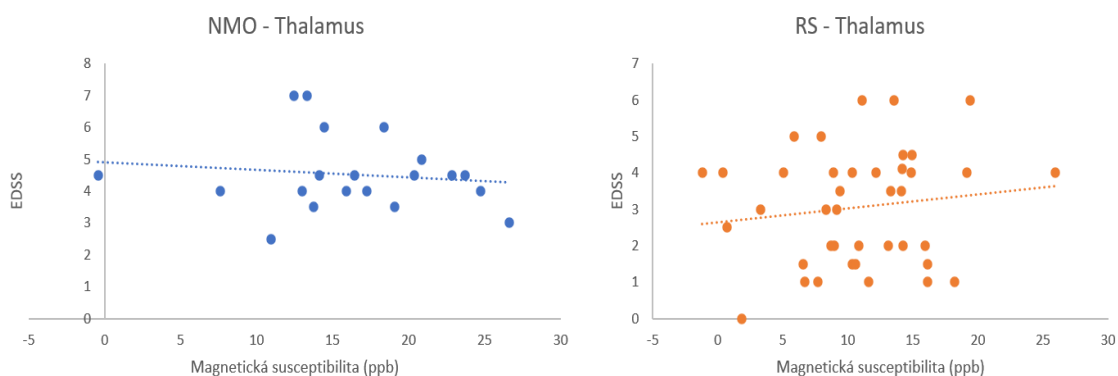
Obr. 39: Korelace magnetické susceptibilita a EDSS u pacientů s NMO a RS v pulvinar thalami.



Obr. 40: Korelace magnetické susceptibilita a EDSS u pacientů s NMO a RS v putamen.



Obr. 41: Korelace magnetické susceptibility a EDSS u pacientů s NMO v substantia nigra



Obr. 42: Korelace magnetické susceptibility a EDSS u pacientů s NMO v thalamu

8.6.4. Korelace magnetické susceptibility a věku

Signifikantní korelace mezi hodnotami magnetické susceptibility a věkem byla nalezena pouze u pacientů s RRRS v nucleus caudatus ($r=0.49$, $p=0.0013$), nucleus ruber ($r=0.45$, $p=0.0040$) a putamen ($r=0.51$, $p=0.0007$).

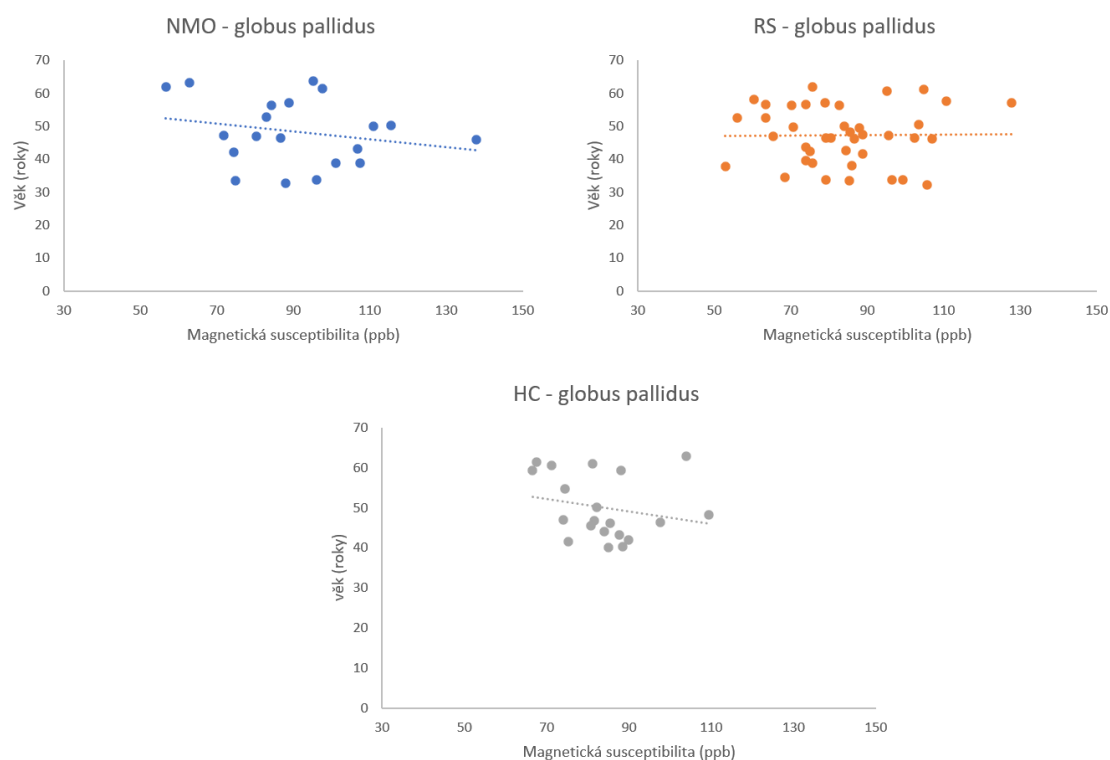
U pacientů s NMO nebyla tato korelace nalezena v žádné z hodnocených struktur.

Výsledky korelace jsou uvedeny v tabulce 11 a v grafech na obr. 42-49.

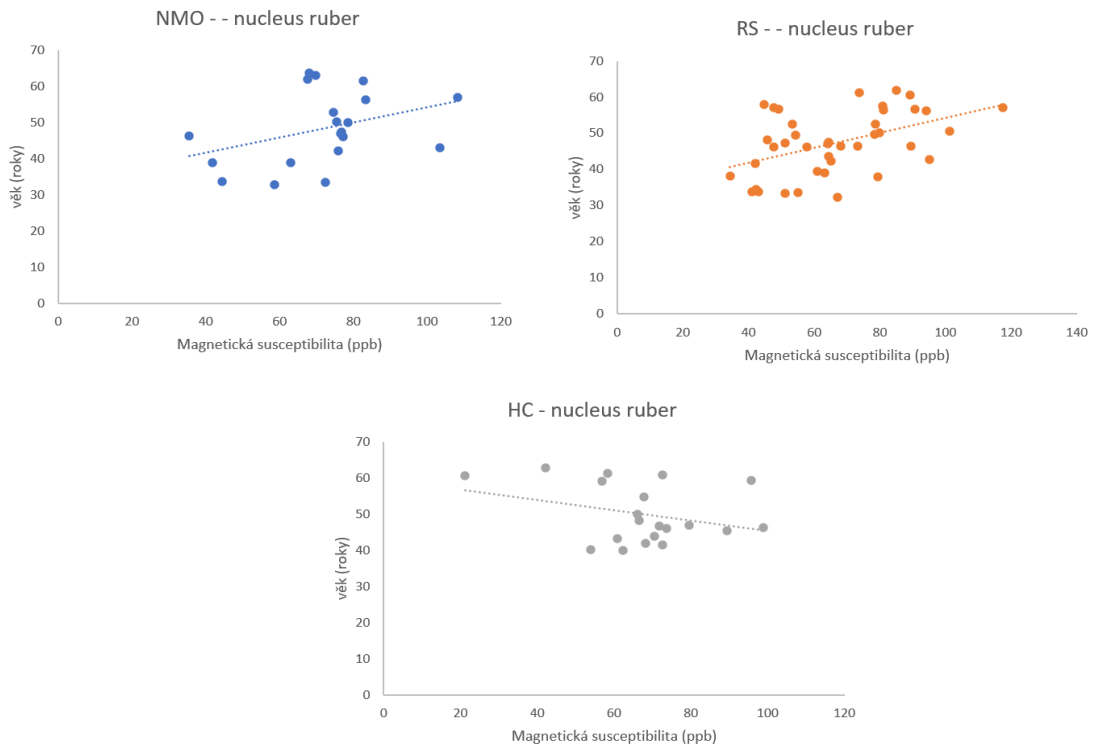
Tab. 11: Korelace magnetické susceptibility a věku

	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO							
r_s	-0,214	0,343	0,334	0,122	0,21	0,23	-0,068
p	0,364	0,139	0,15	0,608	0,374	0,33	0,78
RS							
r_s	-0,544	0,45	0,49	-0,192	0,51	0,143	0,204
p	0,738	0,0040	0,0013	0,235	0,0007	0,378	0,207
HC							
r_s	-0,295	-0,173	0,099	-0,159	0,195	-0,143	-0,0872
p	0,207	0,464	0,677	0,50	0,407	0,547	0,714

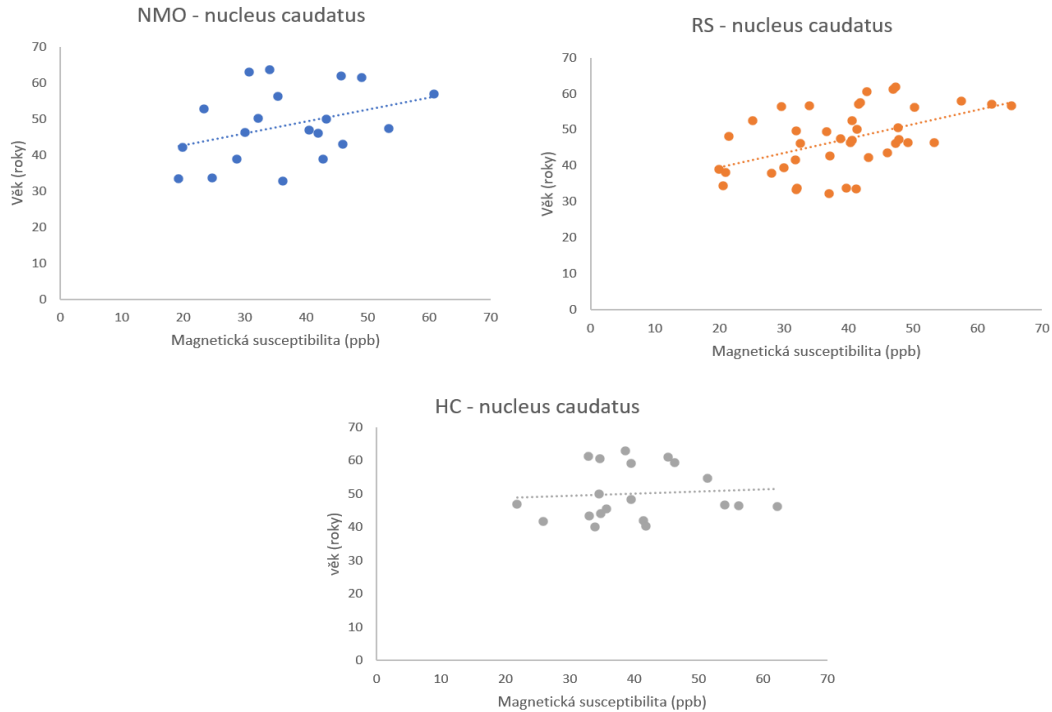
r_s – Spearmanův korelační koeficient



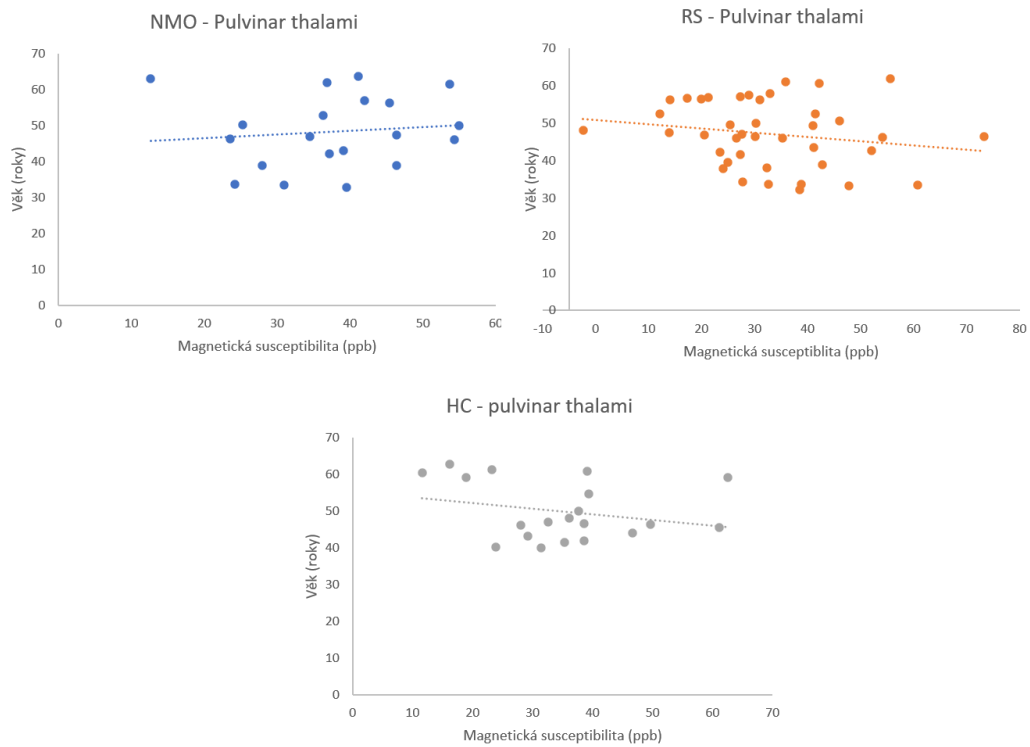
Obr. 43: Korelace magnetické susceptibility a věku u pacientů s NMO, RS a HC v globus pallidus.



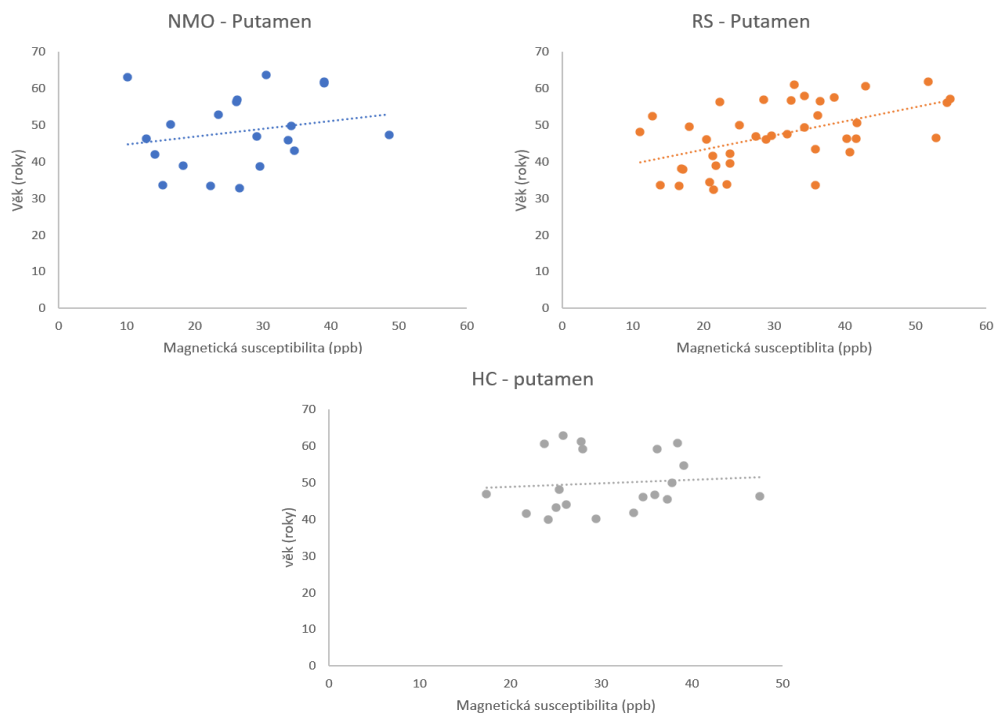
Obr. 44: Korelace magnetické susceptibilita a věku u pacientů s NMO, RS a HC v nucleus ruber.



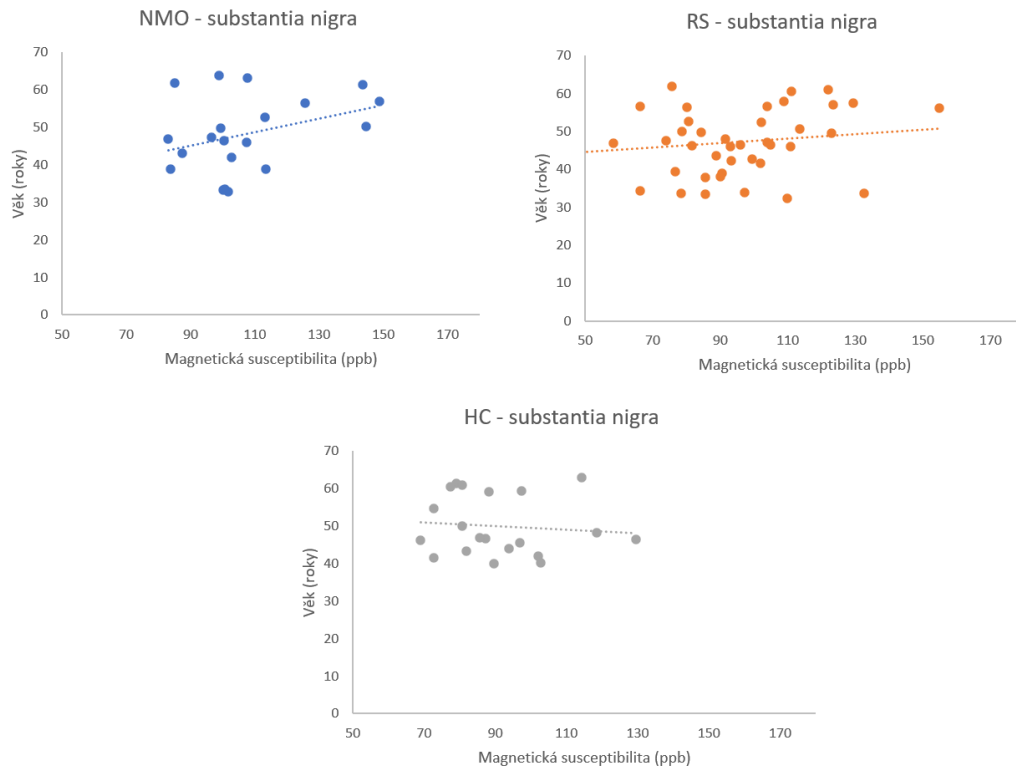
Obr. 45: Korelace magnetické susceptibilita a věku u pacientů s NMO, RS a HC v nucleus caudatus.



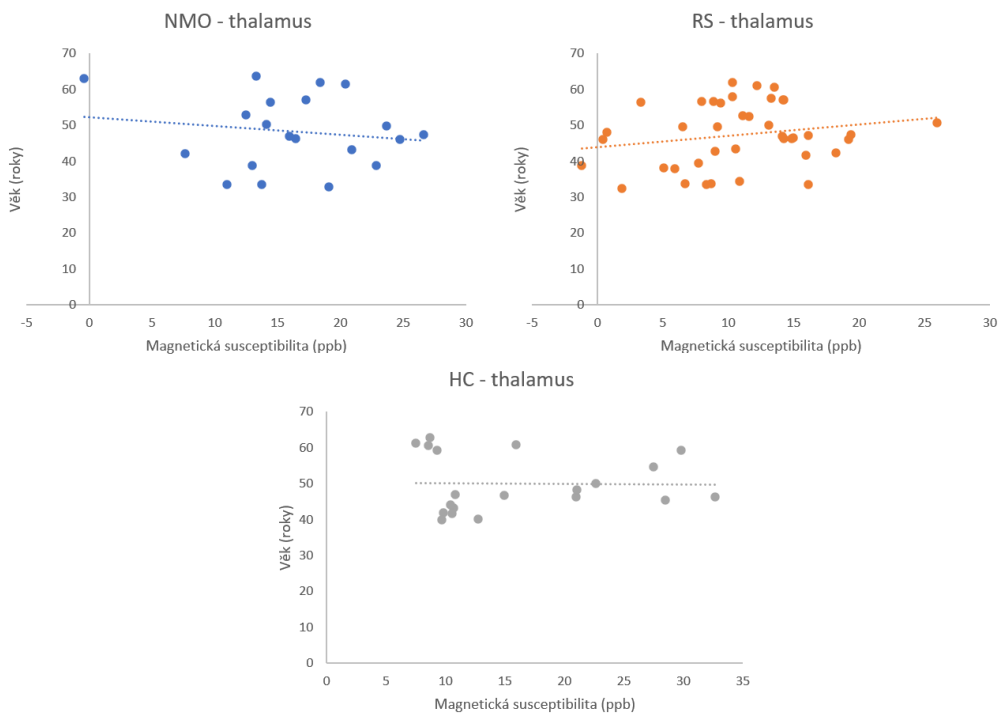
Obr. 46: Korelace magnetické susceptibilita a věku u pacientů s NMO, RS a HC v pulvinar thalami.



Obr. 47: Korelace magnetické susceptibilita a věku u pacientů s NMO, RS a HC v putamen.



Obr. 48: Korelace magnetické susceptibilita a věku u pacientů s NMO, RS a HC v substantia nigra.



Obr. 49: Korelace magnetické susceptibilita a věku u pacientů s NMO, RS a HC v thalamu.

8.6.5. Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS

Ve skupině pacientů s NMO nebyla zjištěna žádná souvislost mezi hodnotami objemu jednotlivých struktur hluboké šedé hmoty a mírou neurologického postižení.

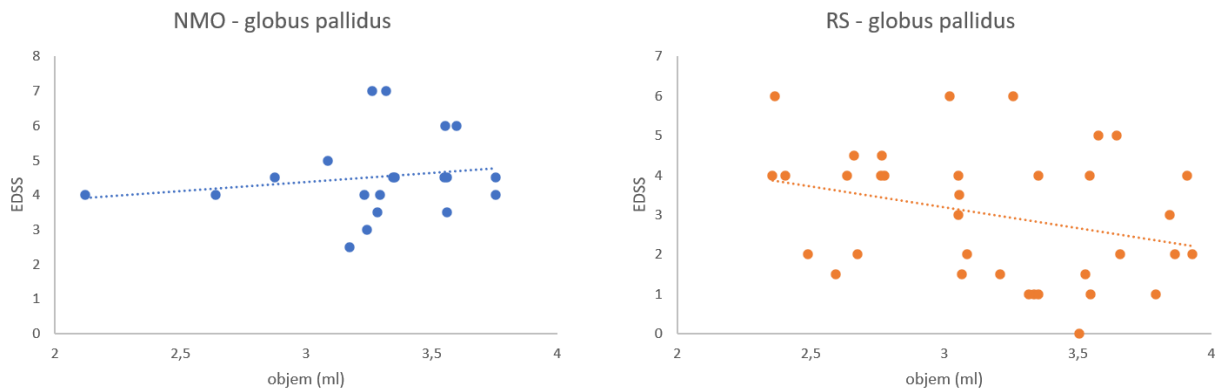
Ve skupině pacientů s RRRS byla nalezena negativní korelace v putamen ($r_s = -0,384$, $p = 0,014$), tedy snížení objemu putamen u pacientů s vyšší mírou neurologického postižení.

Výsledky této korelace jsou uvedeny v tabulce 12 a v grafech na obr. 50-56.

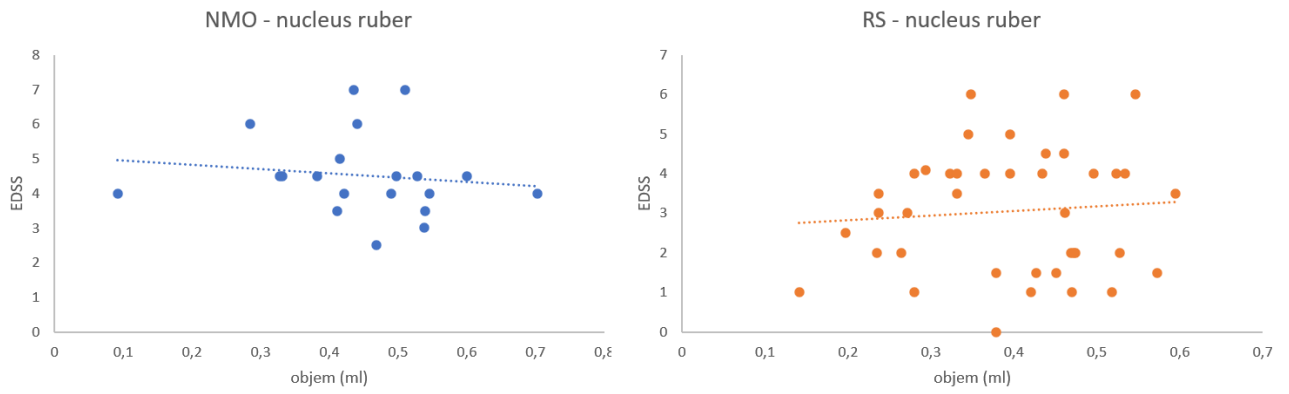
Tab. 12: Korelace objemu struktur DGM a EDSS

	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO							
r_s	0,243	-0,247	0,14	-0,252	-0,073	-0,303	-0,397
p	0,302	0,294	0,556	0,283	0,76	0,194	0,083
RS							
r_s	-0,309	0,037	-0,24	0,092	-0,384	-0,272	-0,283
p	0,052	0,82	0,136	0,571	0,014	0,09	0,077

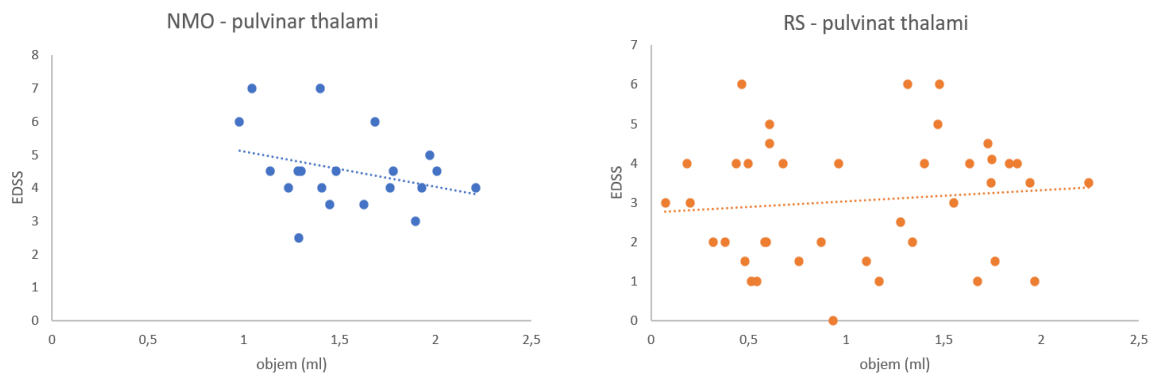
r_s – Spearmanův korelační koeficient



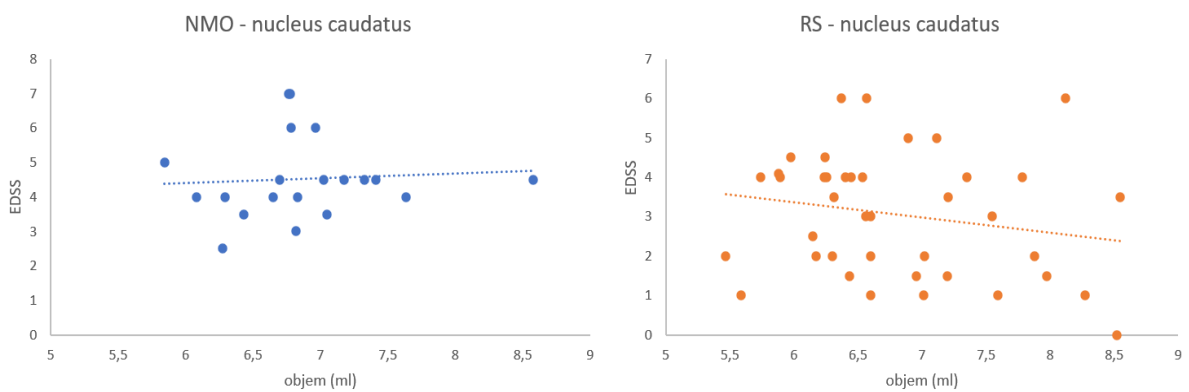
Obr. 50: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v globus pallidus.



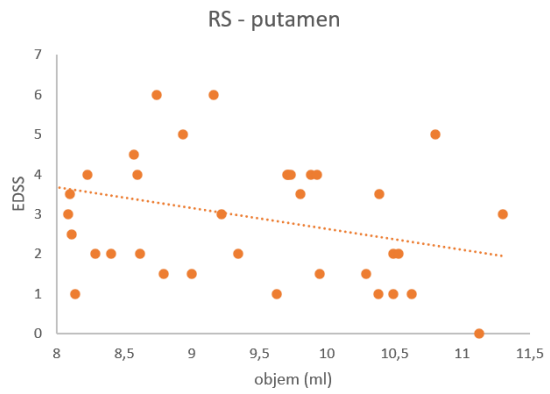
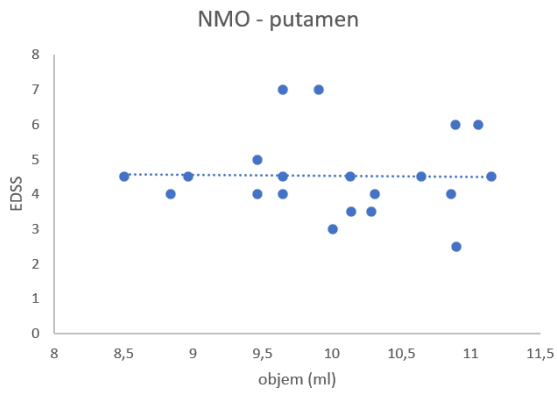
Obr. 51: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v nucleus ruber.



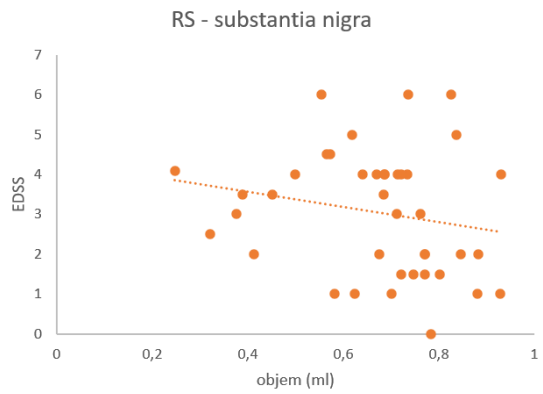
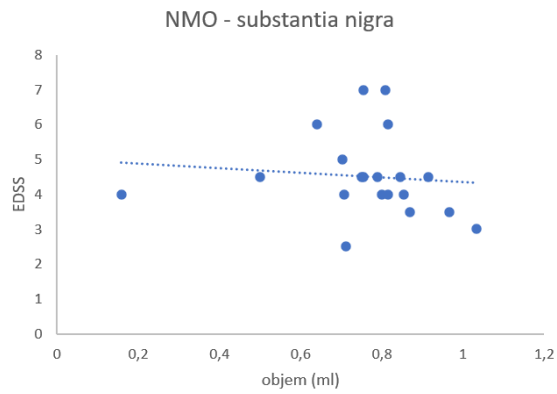
Obr. 52: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v pulvinar thalami.



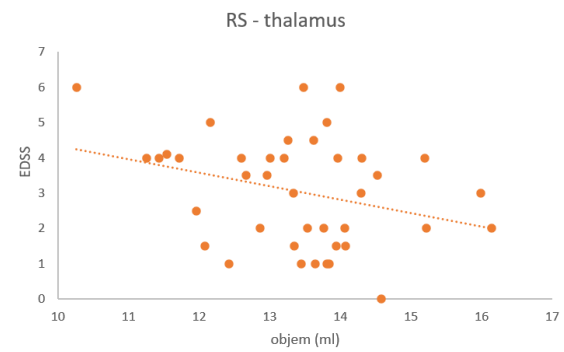
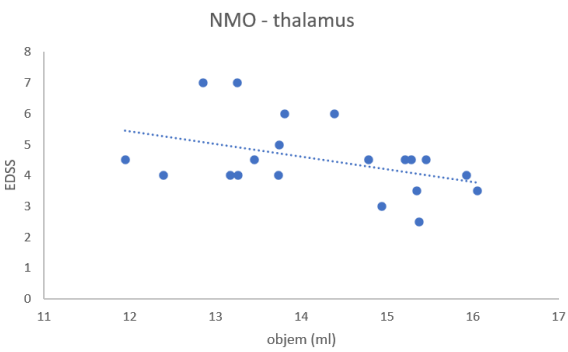
Obr. 53: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v nucleus caudatus.



Obr. 54: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v putamen.



Obr. 55: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v substantia nigra.



Obr. 56: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a EDSS u pacientů s NMO a RS v thalamu.

8.6.6. Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku

Dále byla zjišťována souvislost změny objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u všech vyšetřovaných skupin, výsledky jsou uvedeny v tabulce 13 a v grafech na obr. 57-63.

Ve všech vyšetřovaných skupinách byla patrna negativní korelace těchto hodnot v thalamu, tedy signifikantní snížení objemu thalamu s vyšším věkem (NMO $r_s = -0,636$, $p = 0,003$, RRRS $r_s = -0,4$, $p = 0,01$, HC $r_s = -0,461$, $p = 0,043$). U pacientů s NMO v žádné další lokalizaci ke změně objemu v souvislosti s věkem nedošlo.

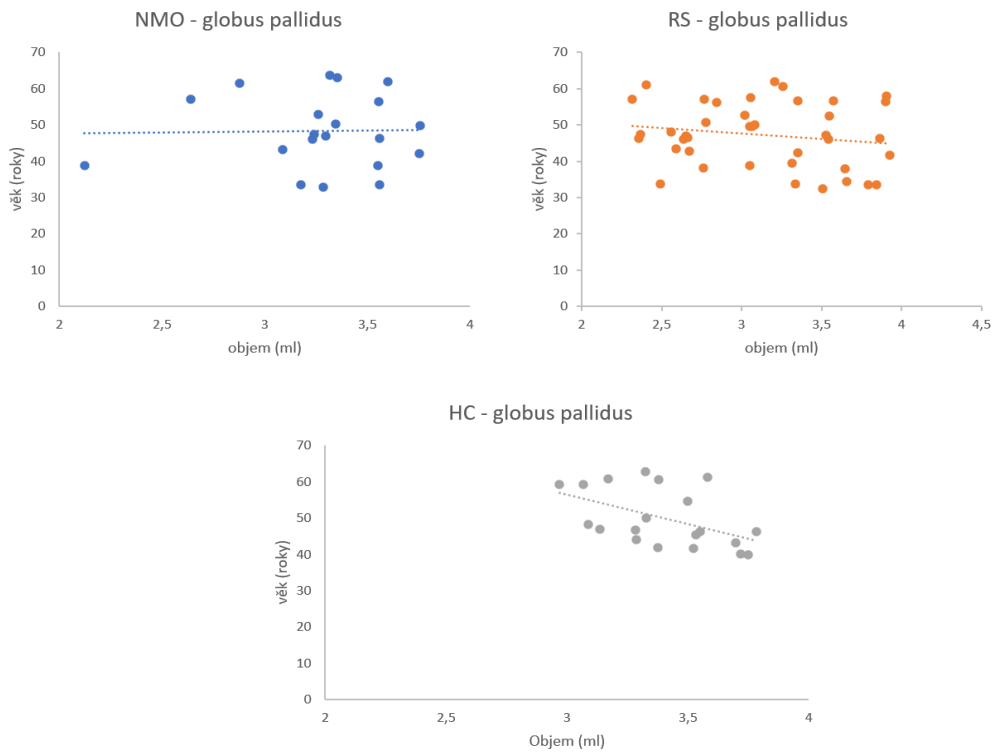
Ve skupině pacientů s RRRS bylo pozorováno v souvislosti s vyšším věkem také snížení objemu putamen ($r_s = -0,531$, $p = 0,00042$) a substantia nigra ($r_s = -0,376$, $p = 0,0169$), a naopak mírné zvětšení objemu pulvinar thalami ($r_s = 0,369$, $p = 0,019$).

U zdravých kontrol bylo nalezeno snížení objemu putamen ($r_s = -0,495$, $p = 0,028$), substantia nigra ($r_s = -0,504$, $p = 0,025$) a globus pallidus ($r_s = -0,508$, $p = 0,024$).

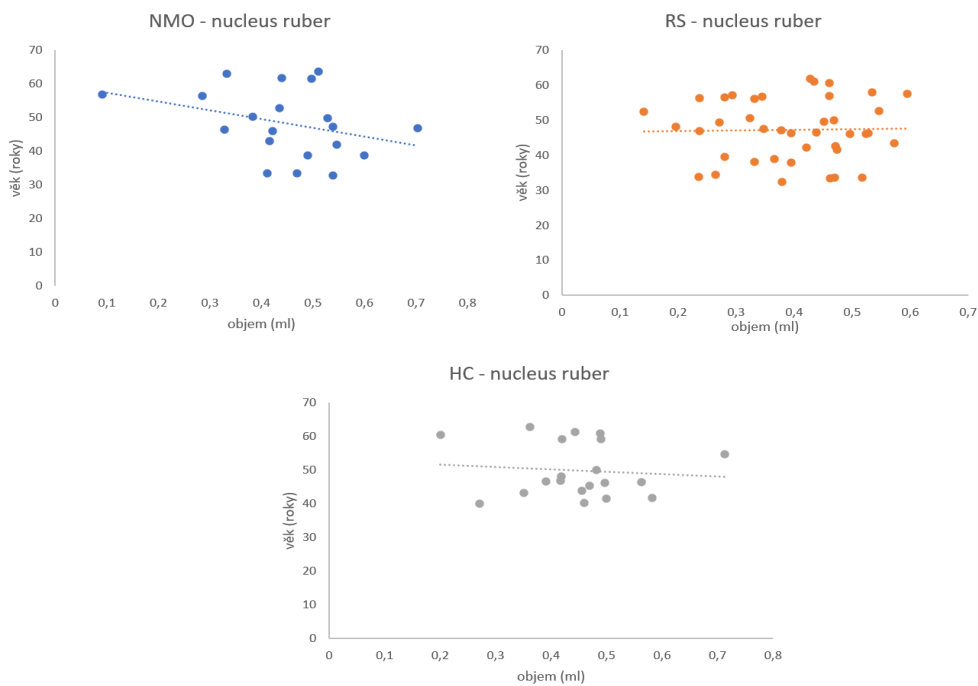
Tab. 13: Korelace objemu struktur DGM a věku

	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO							
r_s	0,066	-0,322	0,346	-0,328	-0,385	0,361	-0,636
p	0,782	0,166	0,136	0,158	0,095	0,119	0,003
RS							
r_s	-0,167	-0,014	-0,299	0,369	-0,531	-0,376	-0,4
p	0,303	0,933	0,06	0,019	0,00042	0,0169	0,01
HC							
r_s	-0,508	-0,114	-0,14	0,134	-0,495	-0,504	-0,461
p	0,024	0,63	0,555	0,572	0,028	0,025	0,043

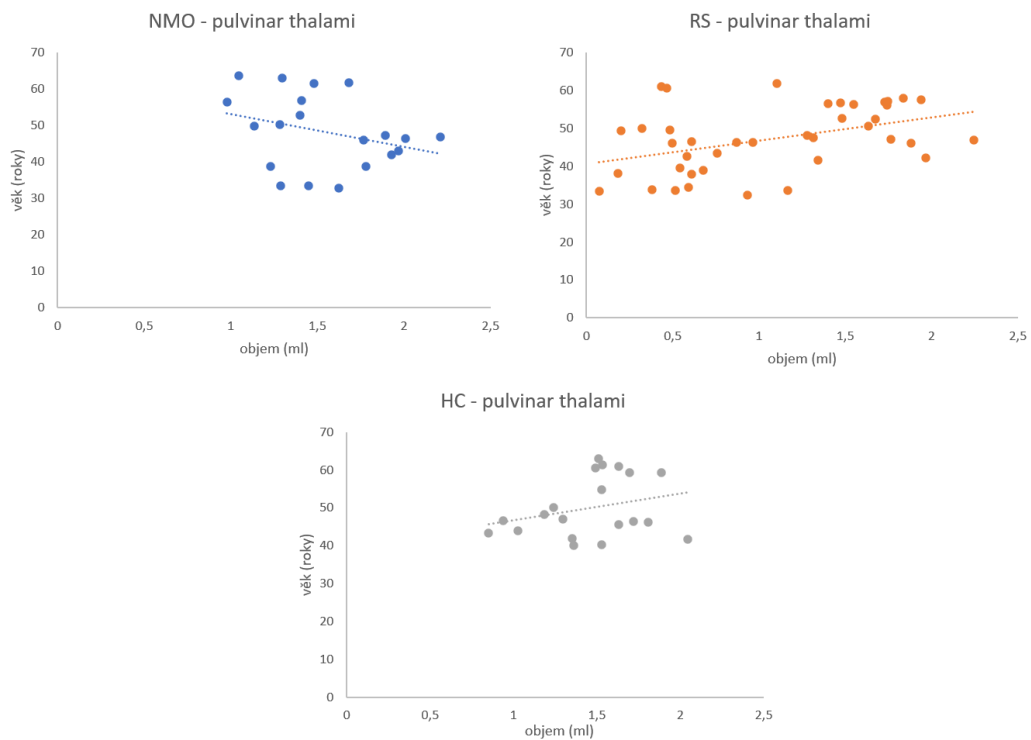
r_s – Spearmanův korelační koeficient



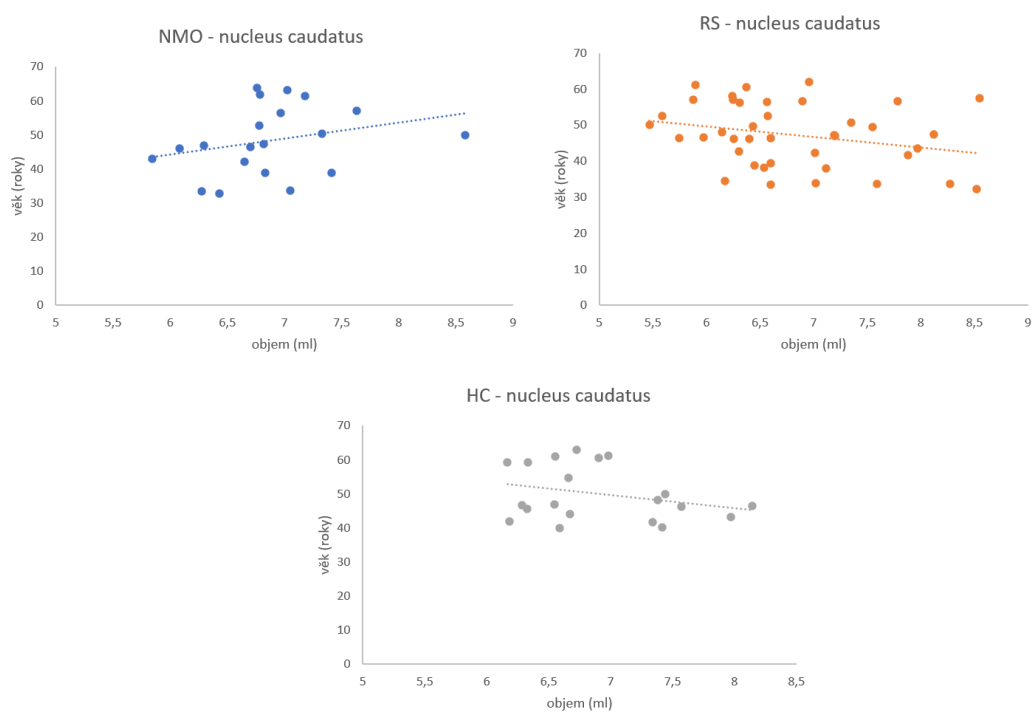
Obr. 57 : Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v globus pallidus



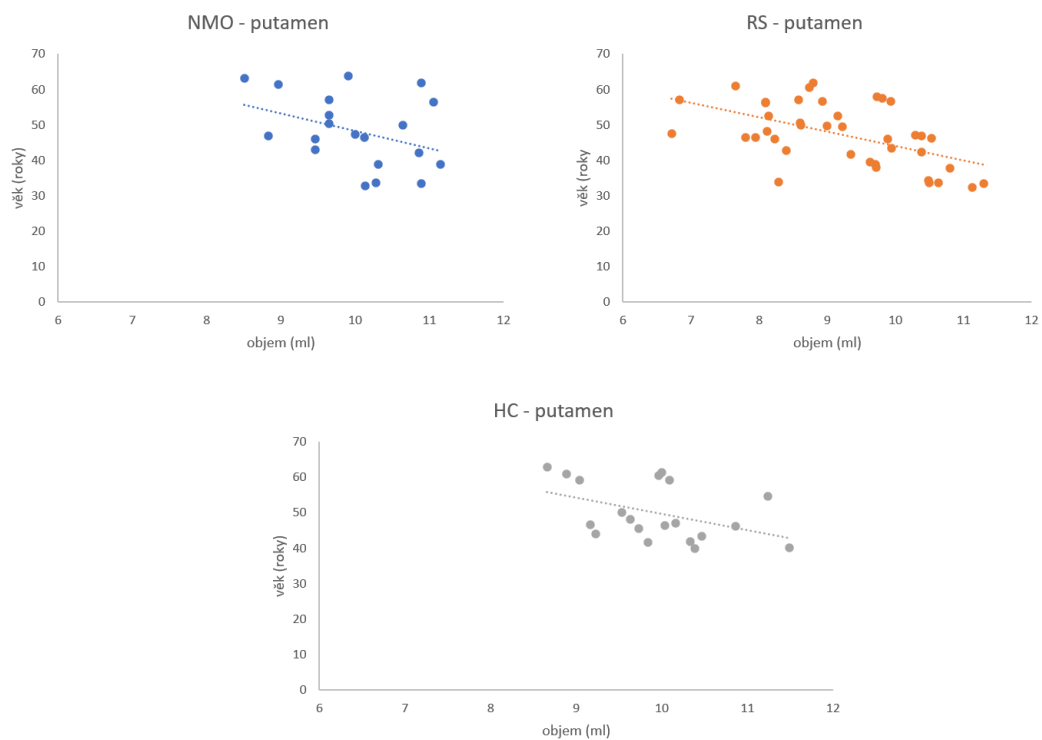
Obr. 58: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v nucleus ruber



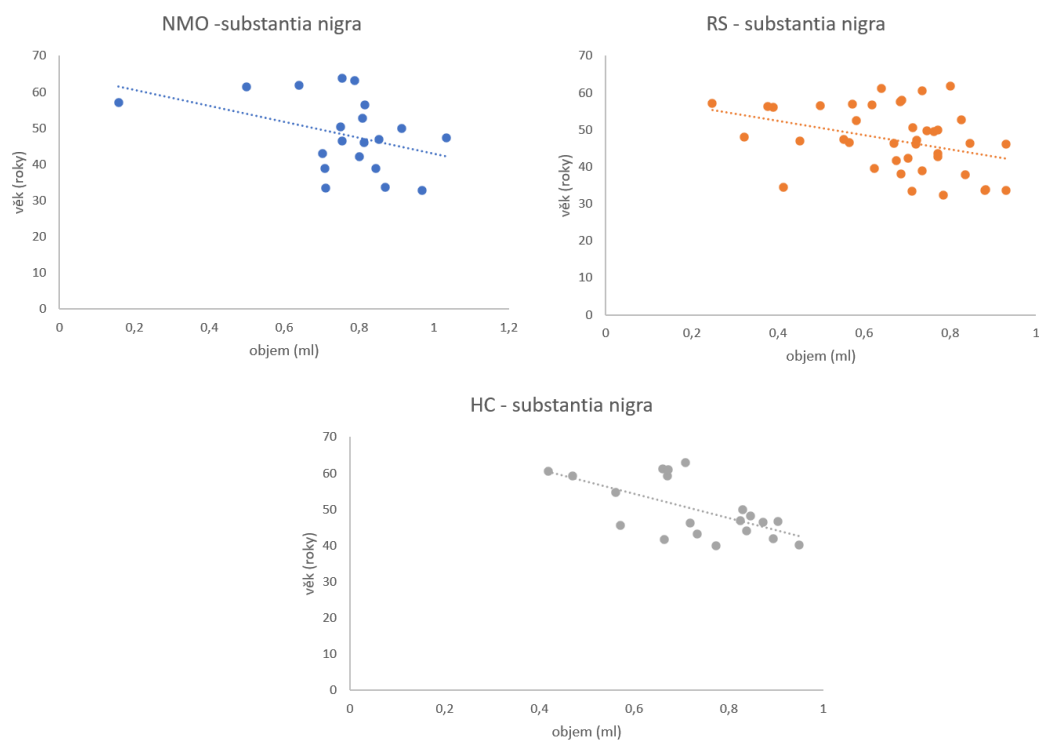
Obr. 59: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v pulvinar thalami.



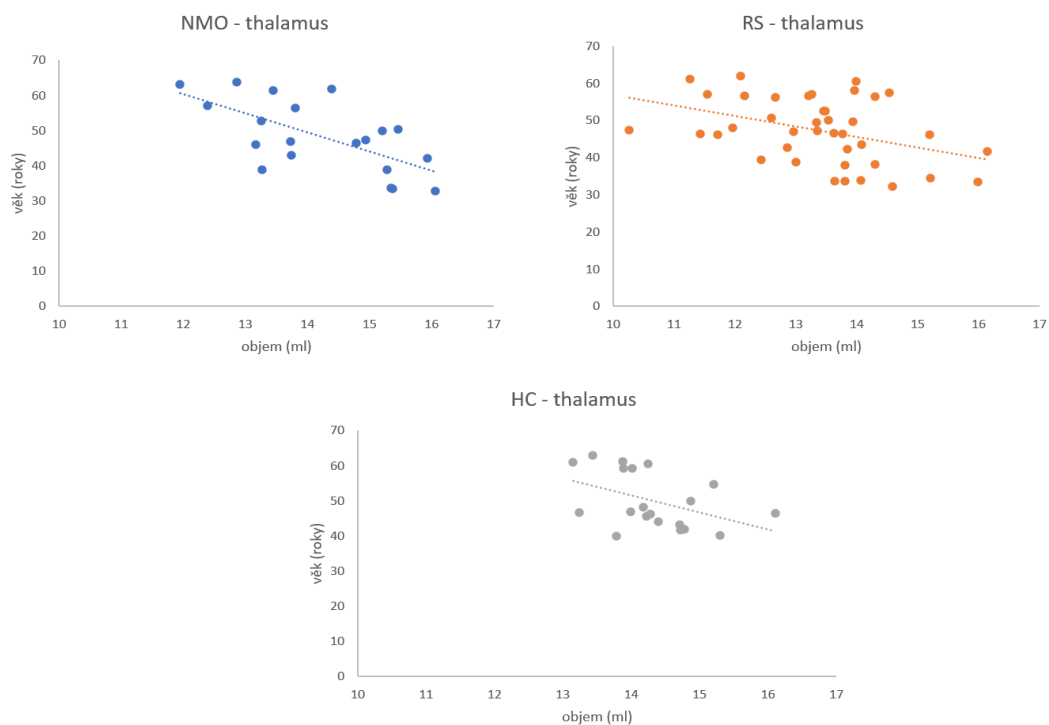
Obr. 60: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v nucleus caudatus.



Obr. 61: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v putamen.



Obr. 62: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v substantia nigra.



Obr. 63: Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a věku u pacientů s NMO, RS a HC v thalamu.

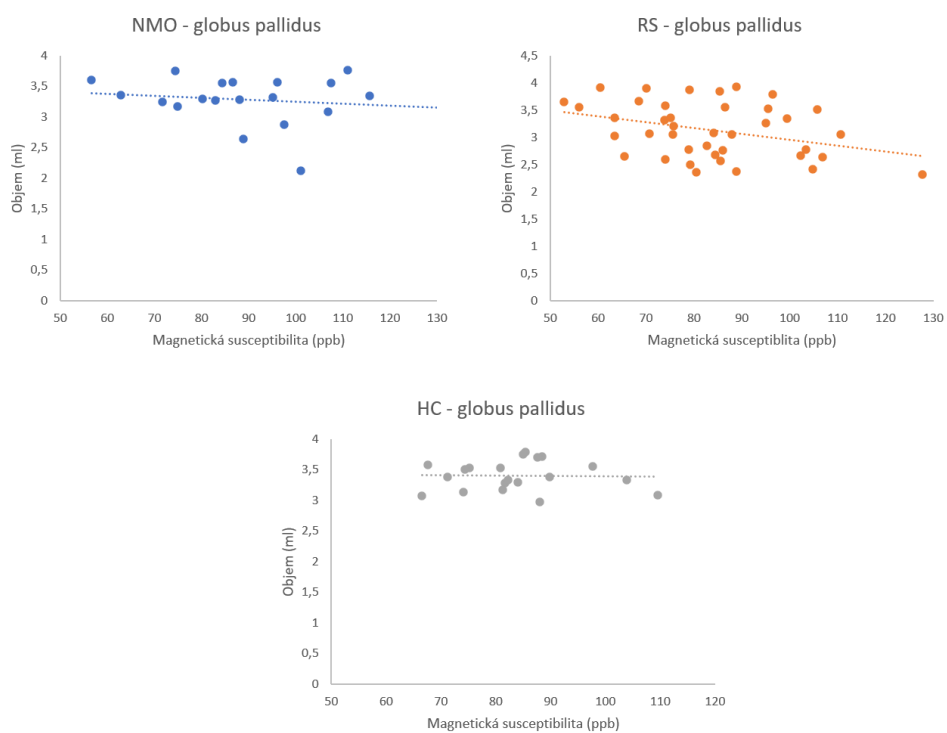
8.6.7. Korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a magnetické susceptibility

U všech skupin pacientů byla provedena korelace objemu struktur hluboké šedé hmoty a magnetické susceptibility (tab. 14, obr. 64- 70). Ve skupině pacientů s NMO nebyla nalezena žádná signifikantní asociace těchto dvou hodnot. Ve skupině pacientů s RRRS byla nalezena negativní korelace v globus pallidus ($r_s = -0,32$, $p = 0,044$) a v pulvinar thalami ($r_s = -0,341$, $p = 0,031$). Ve skupině zdravých jedinců byla prokázána pozitivní korelace v nucleus ruber ($r_s = 0,562$, $p = 0,011$) v substantia nigra ($r_s = 0,494$, $p = 0,028$).

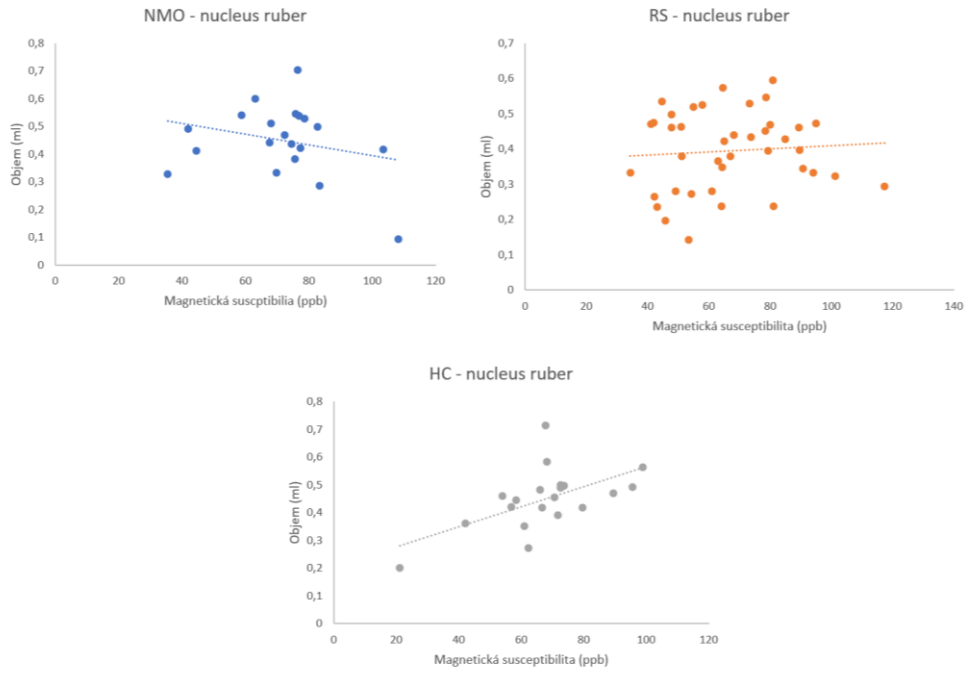
Tab. 14: Korelace objemu struktur DGM a magnetické susceptibility

	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO							
r_s	-0,191	-0,140	0,256	-0,027	-0,075	-0,337	0,075
p	0,42	0,555	0,275	0,911	0,753	0,147	0,752
RS							
r_s	-0,32	0,068	-0,049	-0,341	-0,289	0,085	0,05
p	0,044	0,675	0,764	0,031	0,071	0,601	0,76
HC							
	0,084	0,562	-0,047	0,072	-0,036	0,494	0,311
	0,723	0,011	0,846	0,762	0,88	0,028	0,181

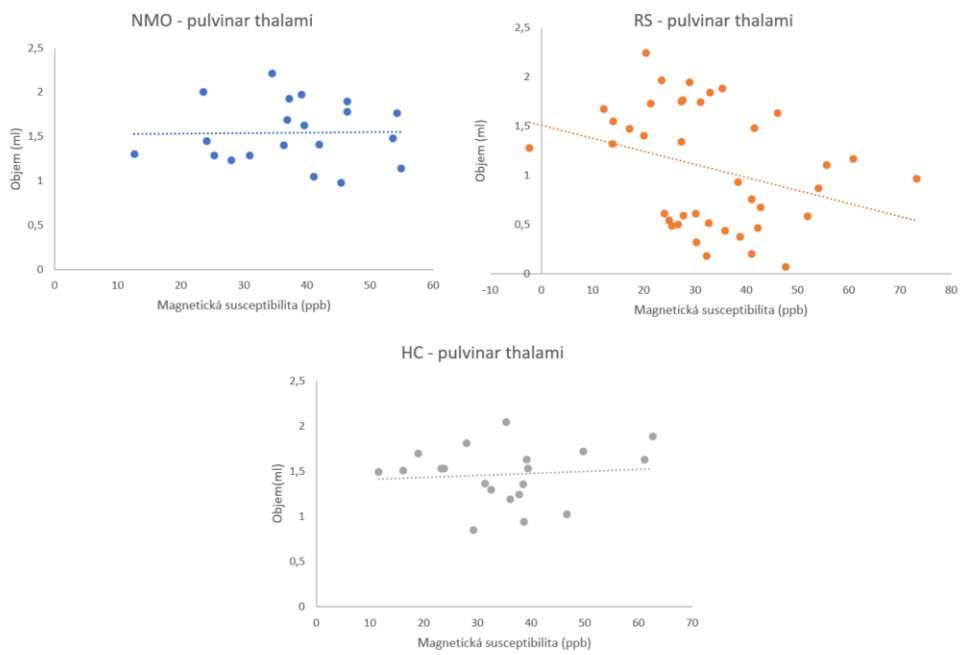
r_s – Spearmanův korelační koeficient



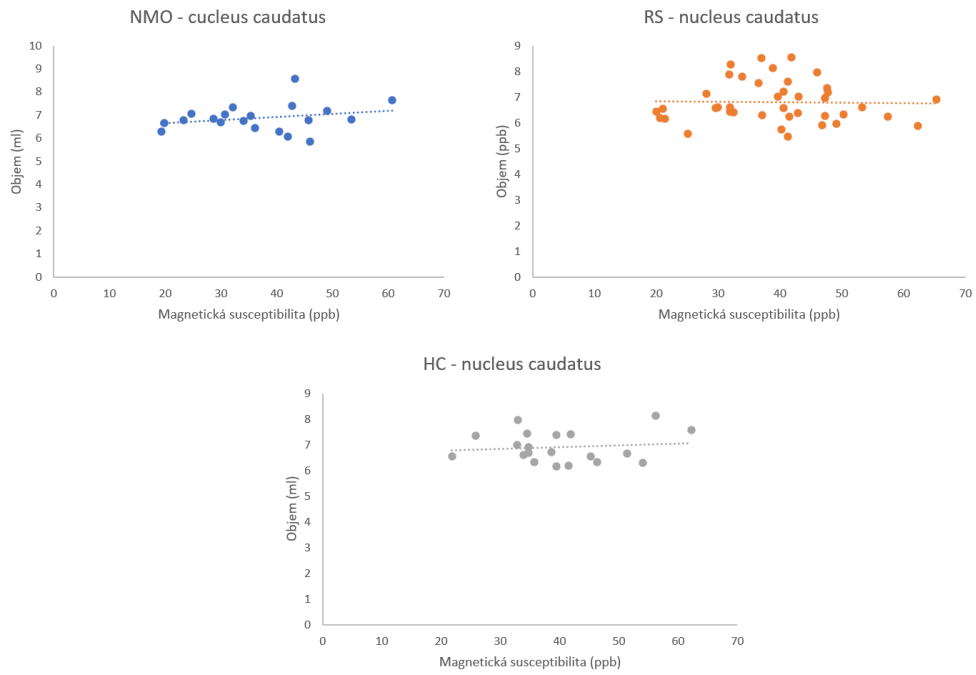
Obr. 64: Korelace magnetické susceptibility a objemu v globus pallidus.



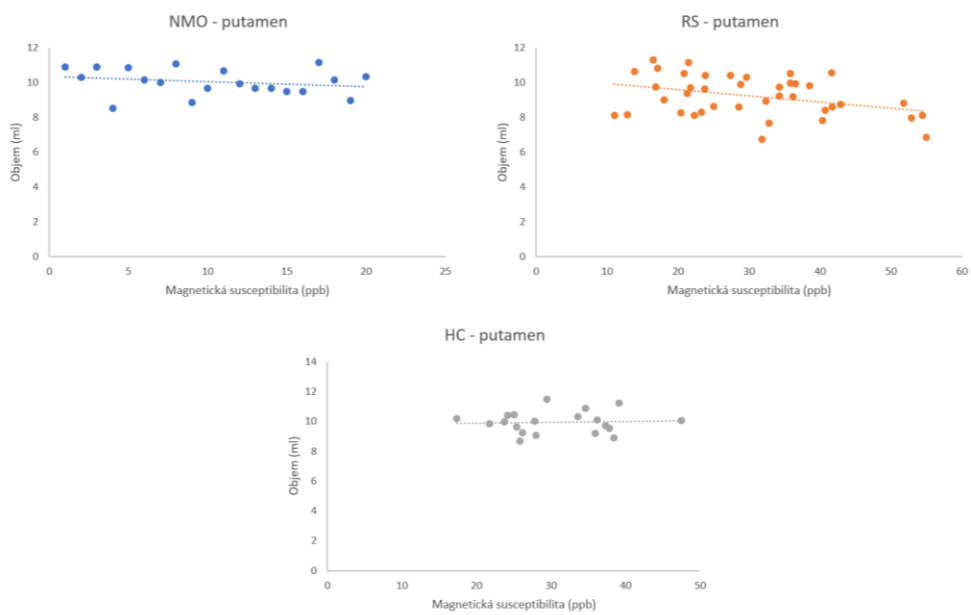
Obr. 65: Korelace magnetické susceptibility a objemu v nucleus ruber.



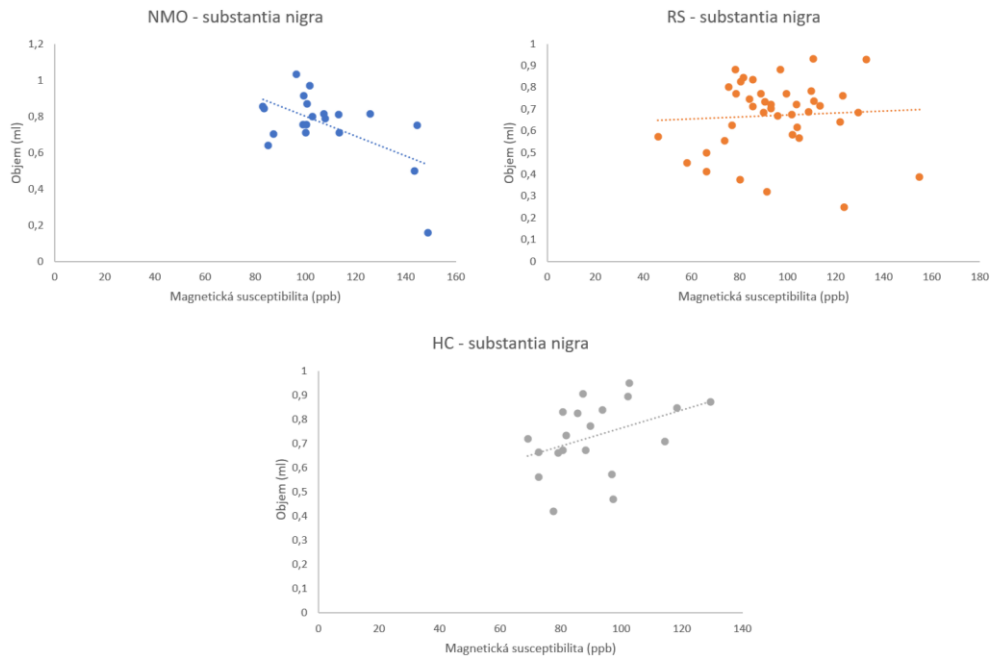
Obr. 66: Korelace magnetické susceptibility a objemu v pulvinar thalami.



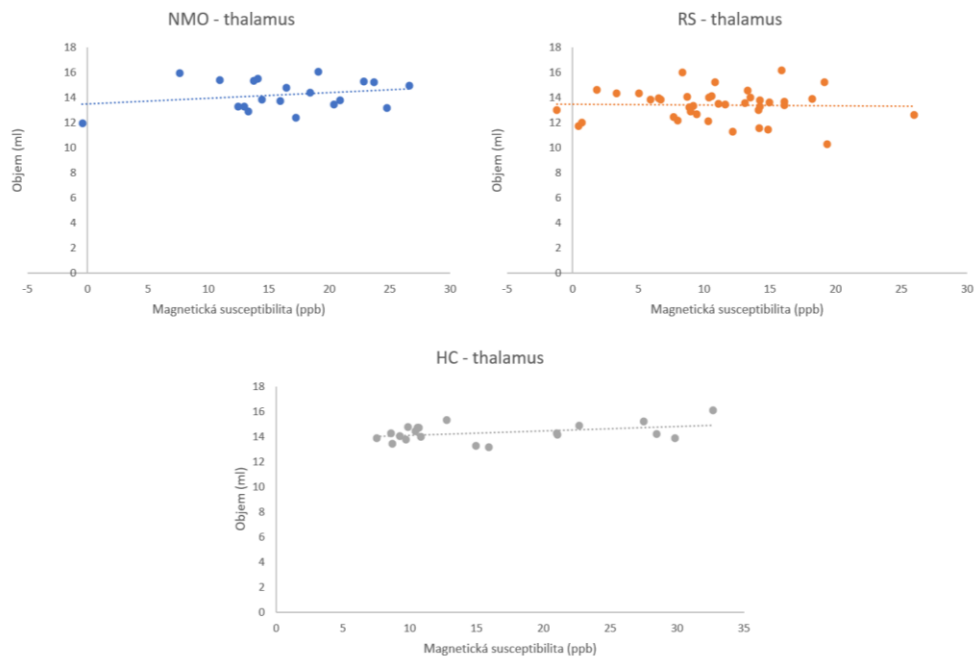
Obr. 67: Korelace magnetické susceptibilitity a objemu v nucleus caudatus.



Obr. 68: Korelace magnetické susceptibilitity a objemu v putamen.



Obr. 69: Korelace magnetické susceptibilita a objemu substantia nigra.



Obr. 70: Korelace magnetické susceptibilita a objemu v thalamu.

Výsledky našeho výzkumu potvrzují rozdíly v ukládání železa v obou sledovaných skupinách pacientů. Souhrnné výsledky u všech skupin pacientů včetně statisticky významných korelací jsou uvedeny v následující tabulce 15.

Tab. 15: Souhrnné výsledky magnetické susceptibility, objemu a zkoumaných korelací ve všech hodnocených struktur hluboké šedé hmoty u všech hodnocených skupin

	Globus pallidus	Nucleus ruber	Nucleus caudatus	Pulvinar thalami	Putamen	Substantia nigra	Thalamus
NMO							
Susceptibilita	-	-	-	-	-	Zvýšená	-
Objem	-	-	-	-	-	-	-
EDSS/suscep.	-	-	-	-	-	-	-
EDSS/objem	-	-	-	-	-	-	-
Suscep/věk	-	-	-	-	-	-	-
Objem/věk	-	-	-	--	-	-	Neg.korel
Suscep/objem	-	-	-	-	-	-	-
RS							
Susceptibilita	-	-	-	-	-	-	Snížená
Objem	-	-	-	Snížený	Snížený	-	Snížený
EDSS/suscep.	-	-	-	-	Poz.korel	-	-
EDSS/objem	-	-	-	-	Neg.korel	-	-
Suscep/věk	-	Poz.korel	Poz.korel	-	Poz.korel	-	-
Objem/věk	-	-	-	Poz.korel	Neg.korel	Neg.korel	Neg.korel
Suscep/objem	Neg.korel	-	-	Neg.korel	-	-	-
HC							
Suscep/věk	-	-	-	-	-	-	-
Objem/věk	Neg.korel	-	-	-	Neg.korel	Neg.korel	Neg.korel
Suscep/objem	-	Poz.korel	-	-	-	Poz.korel	-

8.7. Diskuze

Naše studie ukázala, že pacienti s NMO mají ve srovnání se zdravými kontrolami vyšší hodnoty magnetické susceptibility v substantia nigra (SN). Pacienti s RS vykazují ve srovnání se zdravými kontrolami i pacienti s NMO nižší hodnoty magnetické susceptibility v thalamu a větší atrofii putamen, thalamu a pulvinaru. U pacientů s RS byla dále zjištěna pozitivní korelace mezi klinickým postižením (EDSS) a magnetickou susceptibilitou v putamen.

Potvrdili jsme, že vzorec ukládání železa je u pacientů s NMO a RS odlišný. Pacienti s NMO mají vyšší magnetickou susceptibilitu v substantia nigra, zatímco ostatní bazální ganglia u těchto pacientů ukazují hodnoty susceptibility srovnatelné se zdravými kontrolami. Rozdílné výsledky publikovali Chen a kol. Jejich studie zahrnovala 42 pacientů s NMO, 42 pacientů s RS a 42 zdravých kontrol. Susceptibilita byla měřena ve stejných strukturách hluboké šedé hmoty jako v naší studii. Použitou metodou byla metoda fázového zobrazení. Na rozdíl od naší studie, která ukázala zvýšení susceptibility v SN u pacientů s NMO a snížení susceptibility v thalamu u pacientů s RS, detekovali zvýšené ukládání železa v substantia nigra u pacientů s RS. Hodnoty u pacientů s NMO byly stejné jako hodnoty zdravých kontrol (Chen et al, 2012). Může být

několik důvodů tohoto rozporu. Pacienti v naší studii byli výrazně starší a měli delší trvání onemocnění. Průměrný věk pacientů s NMO byl 48 ± 10 let (věkové rozmezí 32-64 let), pacientů s RS 47 ± 9 let (věkové rozmezí 32-62 let). Pacienti ve studii Chena a kol. byli ve věku 20-58 let (průměrný věk $36,5 \pm 12,3$) v případě NMO, ve věku 22-59 let (průměrný věk $37,8 \pm 11,4$) u pacientů s RS a ve věku 20-58 let (průměrný věk $34,7 \pm 10,4$) v případě zdravých kontrol. Průměrná doba onemocnění v době vyšetření byla v naší studii u pacientů s NMO $11,4 \pm 8,7$ let a u pacientů s RS $14,1 \pm 8,2$ let. Ve studii Chen a kol. probíhalo onemocnění mnohem kratší dobu, $4,3 \pm 3,7$ roku v případě pacientů s NMO a $5,8 \pm 2,9$ roku u pacientů s RS. Pokud bychom předpokládali strmější nárůst akumulace železa související s věkem u NMO, mohl by být rozdíl mezi pacienty a zdravými kontrolami patrný pouze u starších subjektů. Dalším důvodem rozdílných výsledků může být využití rozdílné metody detekce depozit železa. Námi využitá QSM může být v detekci abnormálních depozit železa ve srovnání s jinými metodami MR, jako je například fázové zobrazení, které bylo použito v Chenově studii, lepší. Rozdíl může být také v segmentaci substantia nigra. Každá z částí substantia nigra – pars compacta i pars reticulata, může vykazovat jiný obsah depozit železa a regulace jeho koncentrace v těchto jednotlivých částech může probíhat odlišně. Naše segmentace založená na snímcích QSM zahrnovala také kaudální vrstvy SN a mohla by tak teoreticky obsahovat více částí pars compacta SN.

NMO je poměrně vzácné onemocnění, a proto předchozí studie zaměřené na homeostázu železa u NMO nejsou četné a zahrnují nízký počet pacientů (tab.16). Jednu ze studií, která se zabývala obdobnou problematikou, publikovali Doring a kol. (Doring et al., 2016). Do této retrospektivní studie bylo zařazeno 12 pacientů s NMO (6 mužů a 6 žen) s velkými věkovými rozdíly $35,4 \pm 14,2$ let a s trváním onemocnění 1-7 let s průměrem 3 roky a 12 zdravých kontrol odpovídajícího věku. Susceptibilita byla hodnocena na podkladě R2* relaxometrie a QSM. Hodnoceny byly obdobné struktury hluboké šedé hmoty jako v naší analýze. Doring a kol. prokázali sníženou susceptibilitu v nucleus ruber u pacientů s NMO s větším rozdílem u starších osob. Tento výsledek naše studie nepotvrdila. V naší studii, která zahrnovala vyšší počet pacientů s NMO s delším trváním onemocnění, jsme byli schopni v nucleus ruber potvrdit pouze změny závislé na věku, ale neprokázali jsme rozdíly mezi skupinami v magnetické susceptibilitě nucleus ruber. Ve studii Doringa a kol. do analýzy bohužel nebyla zahrnuta SN.

Také další studie, která použila metodu difúzního tenzorového zobrazení (DTI), prokázala abnormality šedé hmoty u NMO, kdy se hodnoty DTI v normálně vypadající šedé hmotě u pacientů s NMO v porovnání se zdravými kontrolami významně lišily. Do studie bylo zařazeno 8 pacientů NMO (věkové rozmezí 44-58 let) a 7 zdravých kontrol odpovídajícího pohlaví a věku (Pichiecchio A., 2012).

Metabolismus železa by mohl odrážet chronické oxidativní poškození u pacientů s NMO. Oxidační stres je považován za významný faktor v patogenezi autoimunitních onemocnění jako je RS nebo NMO, stále však není jasné, zda a jakým způsobem se metabolismus železa podílí na patogenezi onemocnění (Zhang L. et al., 2014). Nález izolované akumulace železa v SN připomíná vzorec pozorovaný u Parkinsonovy nemoci (PD), u které byla ve studii na zvířatech prokázána vysoká perivaskulární hustota AQP4 v SN, která byla ještě zvýšena po podání parkinsonogenního toxinu 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinu (MPTP). Tyto výsledky podporují myšlenku, že by se AQP4 mohl podílet na patogenezi PD. (Prydz A. et al., 2017).

Tab.16: Porovnání výsledků jednotlivých studií – hodnoty susceptibility

studie	NMO	RS
Pudlač, 2020	Zvýšená v SN	Snížená v thalamu
Chen, 2012		Zvýšená v SN
Doring, 2016	Snížená v NR	
Burgetová, 2017		Snížená v thalamu
Schweser, 2018		Snížená v thalamu
Zivadinov, 2018		Snížená v thalamu
Rudko, 2014		Zvýšená v thalamu

Dalším z našich výsledků bylo signifikantní snížení magnetické susceptibility v thalamu u pacientů s RRRS v porovnání s pacienty NMO a zdravými kontrolami. Snížení magnetické susceptibility v pacientů RRRS v porovnání se zdravými subjekty je v souladu s dalšími tuzemskými i zahraničními publikovaným výzkumy (Burgetová A. et al., 2017, Schweser F. et al., 2018, Zivadinov R. et al., 2018). Literatura však není zcela jednotná. Langkammer a kol. (Langkammer C. et al., 2013) neprokázali odlišnou globální susceptibilitu thalamu u pacientů s klinicky izolovaným syndromem, Rudko a kol. (Rudko D.A. et al., 2014) dokonce detekovali u skupiny pacientů s roztroušenou sklerózou v thalamu zvýšenou susceptibilitu. Příčina těchto protichůdných nálezů není jasná. Vysvětlení by mohlo být v rozdílné segmentaci struktur. Histochemická studie ukázala, že distribuce železa v thalamu je nerovnoměrná, přičemž nejvyšší akumulaci železa má přední skupina jader a pulvinar thalami (Morris C.M. et al., 1992). Ve studii Burgetová a kol. bylo s použitím manuální segmentace prokázáno, že pokud je segmentován celý thalamus, je patrný jen trend rozdílu v globální susceptibilitě thalamu mezi skupinou RS a zdravými kontrolami. Signifikantní rozdíly mezi skupinami pak byly v susceptibilitě thalamu bez pulvinaru, zatímco v pulvinaru samotném nebyl zjištěn žádný významný rozdíl mezi skupinami (Burgetová A. et al., 2017). Dále je možné, že se železo v thalamu může akumulovat v časně fázi RS, zatímco v pozdější fázi onemocnění může jeho koncentrace klesat. Tuto teorii by podpořily výsledky Burgerové (Burgetová et al., 2017). Na druhou stranu některé studie ukázaly, že úbytek železa v thalamu u RS začíná již u pacientů s klinicky izolovaným syndromem s dalším poklesem po konverzi na definitivní RS (Khalil M. et al., 2011). Haider a kol. ve své studii (Haider L. et al., 2014) uvádějí, že by deplece železa u pacientů RS mohla vycházet ze sníženého obsahu železa v oligodendrocytech, které za stresových podmínek uvolňují železo, které je následně vychytáváno aktivovanou mikroglií. To může vést k udržování chronického zánětu s dalším poškozením oligodendrocytů, vyčerpáním železa a ke ztrátě buněk obsahujících železo jako jsou oligodendrocyty a neurony. Kromě onemocnění mozku, jeho průběhu a délky byla identifikována řada dalších faktorů, které vedou k poruchám ukládání železa, včetně genových polymorfismů souvisejících s regulací železa (Gemmati D. et al., 2012, Hagemeyer J. et al., 2018). V případě thalamického železa může hrát určitou roli také fakt, že během normálního stárnutí vykazuje celkové železo v thalamu v porovnání se všemi ostatními strukturami hluboké šedé hmoty velmi odlišný vzorec s akumulací až do čtvrté dekády, po níž následuje mírný pokles (Hallgren B. and Sourander P., 1958, Li Y. et al., 2021).

U pacientů s roztroušenou sklerózou není magnetická susceptibilita jen potenciální marker vlastního onemocnění. Existuje zde také vztah mezi susceptibilitou a klinickým postižením

vyjádřeným pomocí EDSS. Naše výsledky ukazují u pacientů s RS signifikantní korelaci zvýšené susceptibility v putamen a EDSS (tab. 17). Tyto výsledky jsou v souladu s některými dříve publikovanými studii (Zhang Y. et al. 2010, Ropele S. et al., 2014, Burgetová A. et al., 2017). Zivadinov a kol. na druhou stranu ukazují u pacientů s RS korelaci mezi klinickým postižením a větší susceptibilitou v globus pallidus (Zivadinov R. et al., 2018).

Tab. 17: Porovnání výsledků jednotlivých studií – porovnání korelací susceptibility a EDSS

studie	RS
Pudlač, 2020	Suscept. putamen/EDSS – pozitivní korelace
Zhang, 2010	Suscept. putamen/EDSS – pozitivní korelace
Ropele, 2014	Suscept. putamen/EDSS – pozitivní korelace
Burgetová, 2017	Suscept. putamen/EDSS – pozitivní korelace
Zivadinov, 2018	Suscept. GP/EDSS – pozitivní korelace

Tab. 18: Porovnání výsledků jednotlivých studií – porovnání změn objemu DGM

studie	NMO	RS
Pudlač, 2020		Atrofie pulvinaru Atrofie thalamu Atrofie putamen
Hyun, 2016	Atrofie thalamu	Atrofie thalamu
Fan, 2017	Atrofie thalamu – AQP4 neg	Atrofie thalamu
Duan, 2012		Atrofie thalamu Atrofie ncl. caudatus
Andravizou, 2019		Atrofie pulvinaru Atrofie thalamu Atrofie putamen
Hanninen, 2020		Atrofie pulvinaru Atrofie thalamu Atrofie putamen
Rizkallah, 2021		Atrofie thalamu Atrofie putamen

Výsledky našeho výzkumu dále ukazují u pacientů s RS v porovnání s pacienty NMO a zdravými kontrolami menší objem thalamu, pulvinaru a putamen. Studie porovnávající regionální atrofii centrální šedé hmoty u NMO a RS jsou vzácné a mají nekonzistentní výsledky (tab. 18). Ačkoli některé studie zjistily atrofii hluboké šedé hmoty u NMO omezenou na thalamus, v naší studii nebyl rozdíl významný. Hyun a kol. v celkem rozsáhlé studii, do které bylo zařazeno 91 pacientů s NMOSD, 52 pacientů s RS a 44 zdravých kontrol, popsal u obou vyšetřovaných skupin pacientů v porovnání se zdravými kontrolami atrofii thalamu, která byla výraznější u RS. Atrofie thalamu byla spojena s klinickým postižením jak u NMOSD, tak u RS (Hyun J.W. et al., 2017). Fan a kol. popisují v porovnání se zdravými kontrolami atrofii thalamu u pacientů s RRRS a u pacientů s NMO ve skupině AQP4 negativních, u skupiny AQP4 pozitivní tato atrofie popsána nebyla (Fan M. et al., 2017). V naší studii byli všichni pacienti AQP4 pozitivní. Duan a

kol. ve své studii hodnotili postižení kortexu a hluboké šedé hmoty. Zjistili atrofii u pacientů s NMO v několika oblastech frontálního, temporálního a parietálního laloku a inzuly, nikoli však v hluboké šedé hmotě. Pacienti s RS měli ve srovnání s NMO významný úbytek objemu v obou thalamech a ncl. caudatus a v některých částech kortexu (Duan Y. et al., 2012). Na druhou stranu dle některých studií nedochází k atrofii šedé hmoty u pacientů s NMO vůbec. Takové výsledky publikovali např. Chanson a kol., kteří popisují atrofii bílé hmoty u pacientů s NMO, ale žádné změny objemu šedé hmoty (Chanson J.B. et al., 2012). Větší atrofii thalamu, pulvinaru a putamen u pacientů RS v porovnání se zdravými kontrolami ukázaly také další studie, které však nezahrnovaly skupinu pacientů NMO (Andravizou A. et al., 2019, Hanninen K. et al., 2020). Stejně výsledky byly recentně publikovány v prospektivní studii, která se zabývala markery oxidativního stresu v likvoru a jejich korelací s magnetickou susceptibilitou a objemem struktur hluboké šedé hmoty u pacientů s nově diagnostikovanou RS. Tato studie zjistila, že pacienti RS již v časně fázi onemocnění mají v likvoru vyšší hladiny stresových markerů, které korelovaly s vyšší susceptibilitou a menším objemem struktur hluboké šedé hmoty (Burgetová A. et al., 2022).

Tab. 18: Porovnání výsledků jednotlivých studií – porovnání korelací změn objemu a EDSS

studie	RS
Pudlač, 2020	objem putamen/EDSS – negativní korelace
Rizkallah, 2021	objem putamen/EDSS – negativní korelace objem thalamu/EDSS – negativní korelace
Bergsland, 2012	objem thalamu/EDSS – negativní korelace
Burgetová, 2021	objem thalamu/EDSS – negativní korelace

Ve studii jsme prokázali signifikantní negativní asociaci mezi objemem putamen a mírou klinického postižení hodnoceného škálou EDSS u pacientů s RS. Snížení objemu putamen tedy korelovalo s výraznějším postižením. Obdobné výsledky uvádí ve své studii Rizkallah et al. (tab.18), kteří popisují u pacientů s RS bilaterálně redukci objemu putamen a thalamu a negativní korelaci objemu s klinickým postižením (Rizkallah M. et al., 2021). Negativní vztah mezi objemem thalamu a postižením hodnoceným pomocí EDSS u RS ukazují také některé další průřezové studie (Bergsland N. et al., 2012, Burgetová R. et al., 2021). Magon et al. uvádějí míru změny objemu thalamu za rok jako důležitý parametr v predikci zhoršení klinického stavu (Magon S. et al., 2020). V naší studii asociace objemu thalamu a EDSS prokázána nebyla.

Zvýšená magnetická susceptibilita v centrální šedé hmotě může mít přímé nebo nepřímé biofyzikální příčiny. Přímou je ovlivněna díky akumulaci paramagnetického železa a/nebo v důsledku diamagnetismu myelinu, díky kterému dochází ke zvýšení susceptibility redukcí myelinu. Nepřímou by magnetickou susceptibilitu mohlo zvýšit zmenšení objemu struktur hluboké šedé hmoty zvýšením koncentrace stávajícího tkáňového železa, bez skutečného ukládání železa, tedy zvýšení susceptibility bez ovlivnění buněk obsahující železo a nesouvisející se změnou myelinu (Hagermaier J, et al., 2018). Tato situace by předpokládala negativní korelaci mezi magnetickou susceptibilitou a objemem struktur hluboké šedé hmoty. Ta u pacientů s NMO v naší vyšetřované skupině nalezena nebyla. Zjištěné zvýšení magnetické

susceptibility v substantia nigra u pacientů NMO v porovnání s kontrolami tedy není způsobeno pouze zmenšením objemu této struktury, ale především v důsledku akumulace železa. Obdobně snížení magnetické susceptibility thalamu u pacientů s RS nemůže být způsobeno změnami objemu vzhledem k jeho současné atrofii ve skupině RS, ale ukazuje na depleci železa v této oblasti. Vyšší obsah myelinu v thalamu není v kontextu RS pravděpodobný. Oblastmi, kde by se na zvýšení susceptibility mohla podílet lokální atrofie, jsou pouze globus pallidus a pulvinar thalami ve skupině pacientů s RS. Tam byla prokázána negativní korelace těchto hodnot. Obecně však nízký obsah myelinu v jádrech hluboké šedé hmoty naznačuje, že změny susceptibility v těchto oblastech souvisejí převážně se železem. Strukturou, u které bylo ve skupině pacientů s RS nalezeno několik signifikantních výsledků a korelací, bylo putamen (*tab. 15*). V porovnání s pacienty s NMO a zdravými kontrolami byla prokázána větší atrofie v souvislosti s věkem, asociace mezi klinickým postižením vyjádřeným pomocí EDSS a atrofií a mezi klinickým postižením a vyšší magnetickou susceptibilitou. Korelace mezi magnetickou susceptibilitou a objemem struktury nalezena nebyla. Ve skupině RS byla kromě putamen zjištěna signifikantní korelace mezi hodnotami magnetické susceptibility a věkem v nucleus caudatus a nucleus ruber. U NMO nebyla korelace magnetické susceptibility s věkem významná v žádné z hodnocených struktur.

Hypotéza 1

Ve skupině pacientů NMO a RS dochází k akumulaci železa v odlišných strukturách hluboké šedé hmoty. Výsledky výzkumu potvrzují hypotézu 1.

Hypotéza 2

U pacientů NMO nebyla nalezena asociace mezi zvýšeným ukládáním železa, atrofií jednotlivých struktur hluboké šedé hmoty a klinickou závažností.

Ve skupině pacientů RS byla prokázána pozitivní korelace mezi zvýšeným ukládáním železa a klinickým postižením v putamen a negativní korelace mezi klinickým postižením a objemem putamen. Putamen je tedy jedinou strukturou hluboké šedé hmoty, kde byla v této skupině pacientů potvrzena hypotéza 2.

8.8. Limity výzkumu

Studie má některé své limitace.

Za prvé, počet pacientů s NMO zařazených do studie je relativně malý, což je dáno vzácným výskytem tohoto autoimunitního onemocnění. Do studie jsme zařadili všechny pacienty z našeho centra, kteří byli schopni vyšetření na MR.

Za druhé, neměřili jsme susceptibilitu v zánětlivých lézích, kterou hodnotila např. výzkumná skupina Sinneckera s využitím 7T MR (Sinnecker T, 2016). Naše vyšetření byla prováděna na MR 1,5 T, která takové detailní měření neumožňuje.

Za třetí, průřezový design studie neposkytuje informace o časové dynamice akumulace železa a objemu struktur. Longitudinální nastavení studie a ukládání železa v bílé hmotě a zánětlivých lézích by mělo být předmětem dalšího zkoumání.

9. Závěr

Ve studii jsme potvrdili, že vzorec akumulace železa v mozku je u pacientů s NMO jiný než u pacientů s RS. Narušená homeostáza železa v mozku se u pacientů s NMO vyskytuje v jiných strukturách hluboké šedé hmoty než u pacientů s RS. Významnými rozdíly ve vyšetřovaných souborech byly zvýšená magnetická susceptibilita v substantia nigra u pacientů s NMO a snížená magnetická susceptibilita v thalamu u pacientů s RS, tedy snížený obsah železa v thalamu. Protože však koncentrace železa v thalamu vykazuje specifický vzorec vývoje v čase, mohou tuto souvislost potvrdit pouze longitudinální studie. Pro skupinu pacientů s RS se ukázalo zajímavé putamen, kde byla nalezena negativní korelace mezi objemem a klinickým postižením a pozitivní korelace mezi magnetickou susceptibilitou a klinickým postižením. Magnetická susceptibilita není u pacientů s RS jen markerem onemocnění, ale je také nezávisle asociována s klinickým postižením. Metabolismus železa by mohl u těchto pacientů odrážet chronické oxidativní poškození. Stále však není zcela jasné, zda se metabolismus železa podílí na patogenezi onemocnění nebo je pouze jejím důsledkem.

Literatura:

1. Andravizou A. et al., Brain atrophy in multiple sclerosis: Mechanisms, clinical relevance and treatment options. *Autoimmun. Highlights*, 2019 Aug 10; 10(1):7
2. Bakshi R. et al., MRI T2 shortening ('black T2') in multiple sclerosis: frequency, location, and clinical correlation. *Neuroreport*. 2000;11: 15–21
3. Bártová P., Parkinsonský syndrom a extrapyramidové projevy u neurodegenerativních onemocnění vázaných na poruchy metabolismu železa, *Neurol. pro praxi*, 2012; 13(3): 140–145
4. Bergsland N. et al., Subcortical and cortical gray matter atrophy in a large sample of patients with clinically isolated syndrome and early relapsing-remitting multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2012, 33:1573–1578.
5. Bermel R. et al., *Gray matter MRI hypointensity predicts longitudinal brain atrophy in multiple sclerosis*. *Arch Neurol* 2005; 62(9):1371-1376.
6. Brass S. et al: Magnetic Resonance Imaging of Iron Deposition in Neurological Disorders Topics in Magnetic Resonance Imaging: February 2006 - Volume 17(1): 31-40
7. Bulk M. et al, Postmortem T₂^{*}- Weighted MRI Imaging of Cortical Iron Reflects Severity of Alzheimer's Disease, *J Alzheimers Dis*. 2018; 65(4): 1125–1137.
8. Burgetová, A. et al, Multiple Sclerosis and the Accumulation of Iron in the Basal Ganglia: Quantitative Assessment of Brain Iron Using MRI T₂ Relaxometry, *Eur Neurol* 2010;63:136–143
9. Burgetova A. et al. Thalamic iron differentiates primary-progressive and relapsing-remitting multiple sclerosis. *AJNR. American Journal of Neuroradiology*. 2017;38(6):1079–1086
10. Burgetova A. et al., Oxidative Stress Markers in Cerebrospinal Fluid of Newly Diagnosed Multiple Sclerosis Patients and Their Link to Iron Deposition and Atrophy. *Diagnostics* 2022,12,1365
11. Burgetová R. et al., Age-related magnetic susceptibility changes in deep grey matter and cerebral cortex of normal young and middle-aged adults depicted by whole brain analysis, *QIMS*,2021;11(9)
12. Daugherty A., Raz N., Age-related differences in iron content of subcortical nuclei observed in vivo: a meta-analysis. *NeuroImage* 2013;70:113-21
13. Doring T. M. et al. Quantitative susceptibility mapping indicates a disturbed brain iron homeostasis in neuromyelitis optica - a pilot study. *PLoS One*. 2016;11(5, article e0155027)
14. Duan Y. et al. Comparison of grey matter atrophy between patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study. *European Journal of Radiology*.
15. Dufek M.: Roztroušená skleróza – EDSS (expanded disability status scale), tzv. Kurtzkeho škála *Neurol. pro praxi* 2011; 12(Suppl. G): 6–9
16. Dušek P. et al., Iron dysregulation in movement disorders, *Neurobiology of disease*, 2012;46(1):1-18
17. Fan M. et al. Comparison of brain and spinal cord magnetic resonance imaging features in neuromyelitis optica spectrum disorders patients with or without aquaporin-4 antibody. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2017;13:58–66
18. Fenton HJH. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of Chemical Society*, 1894;65:899-903.
19. Fiehring H, Sundermann A., Ferritin in the normal human brain (German). *Gesamte Inn Med* 1986; 14: 787–790.

20. Gemmati D. et al., Polymorphisms in the genes coding for iron binding and transporting proteins are associated with disability, severity, and early progression in multiple sclerosis, *BMC Medical Genetics*, 2012, 13(1): 70
21. Haacke et al., Quantitative susceptibility mapping: current status and future directions. *Magn. Reson. Imaging*, 2015, 33: 1–25
22. Hagemeyer J., et al., “Iron-related gene variants and brain iron in multiple sclerosis and healthy individuals,” *NeuroImage: Clinical*, 2018; 17: 530–540
23. Haider L. et al., *Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron*, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014 Dec;85(12):1386-95.
24. Hallgren B., Sourander P., The effect of age on the non-haemin iron in the human brain. *J Neurochem* 1958; 3: 41–51.
25. Hametner S. et al., *The influence of brain iron and myelin on magnetic susceptibility and effective transverse relaxation - A biochemical and histological validation study*, Neuroimage, 2018, 179:117-133
26. Hänninen K. et al., Thalamic Atrophy Predicts 5-Year Disability Progression in Multiple Sclerosis. *Front. Neurol.* 2020 July;11:606
27. Havrdová E., *Roztroušená skleróza*, Neurol. pro praxi, 2008; 9(4): 208
28. Ho J. K. et al.: MRI characteristics of neuromyelitis optica spectrum disorder An international update, *Neurology*, 2015; 84 (11)
29. Hyun J.-W. et al. Deep gray matter atrophy in neuromyelitis optica spectrum disorder and multiple sclerosis. *European Journal of Neurology*. 2017;24(2):437–445
30. Chanson J.B. et al., White matter volume is decreased in the brain of patients with neuromyelitis optica. *European Journal of Neurology*. 2013;20(2):361–367
31. Chen X. et al.: Iron deposition of the deep grey matter in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica: a control quantitative study by 3D-enhanced susceptibility-weighted angiography (ESWAN) *European Journal of Radiology*. 2012;81(4):e633–e639
32. Khalil M. et al. Quantitative assessment of brain iron by R(2)* relaxometry in patients with clinically isolated syndrome and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009 Sep;15(9):1048-54.
33. Khalil M. et al.: Determinants of brain iron in multiple sclerosis: a quantitative 3T MRI study. *Neurology*, 2011;77:1691–97
34. Kolektiv autorů: KKNEU0031 – Klinický doporučený postup pro diagnostiku a léčbu roztroušené sklerózy a neuromyelitis optica a onemocnění jejího širšího spektra, verze 2.0, Praha, 2020: 31
35. Kurtzke J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983; 33(11): 1444–1452.
36. Langkammer C. et al., Quantitative susceptibility mapping (QSM) as a means to measure brain iron? A post mortem validation study. *Neuroimage* 2012; 62: 1593–1599
37. Langkammer C. et al., Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study. *Radiology* 2010;257(2):455–462
38. Langkammer C. et al., Quantitative susceptibility mapping in multiple sclerosis, *Radiology*, 2013; 267(2):551–559.
39. Langkammer C. et al., Susceptibility induced gray-white matter MRI contrast in the human brain. *Neuroimage* 2012;59(2):1413–1419

40. Langkammer C. et al., Fast quantitative susceptibility mapping using 3D EPI and total generalized variation. *NeuroImage*, 2015; 111: 622–630
41. Lennon V.A et al., A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis, *Lancet*, 2004, 364(9451):2106-12.
42. Liu Ch. et al., Quantitative Susceptibility Mapping: Contrast Mechanisms and Clinical Applications Tomography. 2015; 1(1): 3–17
43. Liu C. et al., High-field (9.4 T) MRI of brain dysmyelination by quantitative mapping of magnetic susceptibility. *Neuroimage* 2011;56(3):930–938
44. Li Y. et al., Iron Content in Deep Gray Matter as a Function of Age Using Quantitative Susceptibility Mapping: A Multicenter Study, *Front. Neurosci.* January 2021, Article 607705
45. Magon S. et al.: Label-fusion-segmentation and deformation-based shape analysis of deep gray matter in multiple sclerosis: the impact of thalamic subnuclei on disability. *Hum Brain Mapp*, 2014, 35:4193–4203.
46. Magon S. et al., Volume loss in the deep gray matter and thalamic subnuclei: a longitudinal study on disability progression in multiple sclerosis. *Neurol* 2020;267(5):1536–1546
47. Morris C.M. et al., Histochemical distribution of non-haem iron in the human brain, *Acta Anat*, Basel, 1992;144:235–57
48. Nytrová P. et al: Neuromyelitis optica Devic – první demyelinizační aquaporinová kanálová nemoc? *Neurol. pro praxi* 2010; 11(1): 36–40
49. Nytrová P., Horáková D., Neuromyelitis optica, *Cesk Slov Neurol* , 2015; 78/ 111(2): 130–138
50. Orino K. et al., Ferritin and the response to oxidative stress. *Biochemical Journal*, 2001-06-25;357(1):241-247
51. Papp V., Worldwide Incidence and Prevalence of Neuromyelitis Optica A Systematic Review, *American Academy of Neurology*, January 12, 2021; 96 (2)
52. Persson N. et al., Age and Sex Related Differences in Subcortical Brain Iron Concentrations among Healthy Adults. *NeuroImage* 2015;122:385-98
53. Pichiecchio A., Advanced magnetic resonance imaging of neuromyelitis optica: a multiparametric approach, *Multiple Sclerosis Journal*, 2012;18(6): 817–824
54. Piřha J., Chyby a omyly v diagnostice roztrouřené sklerózy, *Neurol.pro prax,i* 2015; 16(3): 144–148
55. Prydz A., et al., Subcellular expression of aquaporin-4 in substantia nigra of normal and MPTP-treated mice, *Neuroscience*, 2017; 359:258–266
56. Ramanathan S. et al., Radiological differentiation of optic neuritis with myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies, aquaporin-4 antibodies, and multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal* 2016; 22(4): 470–482
57. Rizkallah M. et al., Automated quantification of deep grey matter structures and white matter lesions using magnetic resonance imaging in relapsing remission multiple sclerosis, *Egypt J Radiol Nucl Med*, 2021;52:231
58. Ropele S. et al., Determinants of iron accumulation in deep grey matter of multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis Journal*. 2014;20(13):1692–1698

59. Rudko D.A. et al., *Multiple sclerosis: improved identification of disease-relevant changes in gray and white matter by using susceptibility-based MR imaging*, *Radiology*, 2014, 272 (3), <https://doi.org/10.1148/radiol.14132475>
60. Schenieder S.A. et al., Genetics and pathophysiology of neurodegeneration with brain iron accumulation, *Current Neuropharmacology*, 2013;11(1):59-79
61. Schweser F., et al., Mapping of thalamic magnetic susceptibility in multiple sclerosis indicates decreasing iron with disease duration: a proposed mechanistic relationship between inflammation and oligodendrocyte vitality. *NeuroImage*. 2018;167:438–452
62. Sinnecker T. et al., MRI phase changes in multiple sclerosis vs neuromyelitis optica lesions at 7T, *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, vol. 3, no. 4, p. e259, 2016
63. Sládková V., Diagnostika roztroušené sklerózy, typické klinické příznaky, *Med. praxi* 2015; 12(5): 236–242
64. Thompson A.J. et al., Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria, *Lancet Neurol*. 2017;1474– 4422(17)30470–2
65. Vaněčková M., MR monitorace aktivity pacientů s roztroušenou sklerózou (konvenční techniky, výsledky dlouhodobé MR monitorace léčby ocrelizumabem), *Neurol. pro praxi* 2019; 20(6): 460–466
66. Vaněčková M., Nález na magnetické rezonanci u neuromyelitis optica a onemocnění jejího širšího spektra, *Cesk Slov Neurol*, 2020; 83/ 116(Suppl 1): 20–30
67. Vaněčková M., Radiodiagnostický algoritmus roztroušené sklerózy, *Neurol. pro praxi*, 2013; 14 (Suppl. C): 9–13
68. Vaněčková M., Roztroušená skleróza mozkomíšní a magnetická rezonance: současnost a nové trendy, *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104(6):664-672
69. Vaněčkova M, Seidl Z., Roztroušena skleróza a onemocnění bílé hmoty v MR zobrazení. *Mlada fronta* 2018
70. Voevodskaya O. et al., Initiative: “The effects of intracranial volume adjustment approaches on multiple regional MRI volumes in healthy aging and Alzheimer’s disease.” *Front. Aging Neurosci*. 2014; 6
71. Wingerchuk D.M. et al., International Panel for NMO Diagnosis. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology*,2015;85:177–189
72. Wingerchuk D.M. et al., Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006;66;1485–1489.
73. Zhang Y. et al., 3 T deep gray matter T2 hypointensity correlates with disability over time in stable relapsing–remitting multiple sclerosis: A 3-year pilot study. *Journal of the Neurological Sciences*. 2010;297(1–2):76–81.
74. Zhang L. et al., Iron metabolism in neuromyelitis optica patients, *Journal of the Neurological Sciences*, 2014; 347(1–2): 214–218
75. Zivadinov R. et al., Brain iron at quantitative MRI is associated with disability in multiple sclerosis. *Radiology*. 2018;289(2):487–496

Vlastní publikace vztahující se k tématu (přílohy)

1. Pudlač A., Burgetová A., Dušek P., Nytrová P., Vaněčková M., Horáková D., Krásenský J., Lambert L., Deep Gray Matter Iron Content in Neuromyelitis Optica and Multiple Sclerosis, *Biomed Res Int.* 2020 May 19;2020:6492786. doi: 10.1155/2020/6492786.
2. Burgetová R., Dušek P., Burgetová A., Pudlač A., Vaněčková M., Horáková D., Krásenský J., Varga Z., Lambert L., Age-related magnetic susceptibility changes in deep grey matter and cerebral cortex of normal young and middle-aged adults depicted by whole brain analysis, *QIMS*, 2021;11(9) DOI: 10.21037/qims-21-87
3. Burgetová R., Dušek P., Burgetová A., Pudlač A., Lambert L., Příznak centrální žíly a železného prstence u roztroušené sklerózy, *Česká Radiologie*, 2021; 75(4):285-288

Research Article

Deep Gray Matter Iron Content in Neuromyelitis Optica and Multiple Sclerosis

Adam Pudlac,¹ Andrea Burgetova ,¹ Petr Dusek,² Petra Nytrova,² Manuela Vaneckova,¹ Dana Horakova ,² Jan Krasensky,¹ and Lukas Lambert ¹

¹Department of Radiology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Katerinska 32, Prague 128 08, Czech Republic

²Department of Neurology and Centre of Clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Katerinska 32, Prague 128 08, Czech Republic

Correspondence should be addressed to Andrea Burgetova; andrea.burgetova@vfn.cz

Received 4 September 2019; Accepted 29 April 2020; Published 19 May 2020

Academic Editor: Rosario Sanchez-Pernaute

Copyright © 2020 Adam Pudlac et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background. Neuromyelitis optica (NMO) and multiple sclerosis (MS) are often presenting with overlapping symptoms. The aim of this study was to determine whether and how NMO and MS differ regarding cerebral iron deposits in deep gray matter (DGM) and the correlation between iron deposition and clinical severity as well as to regional atrophy of the DGM. **Methods.** We analyzed 20 patients with NMO, 40 patients with a relapsing-remitting (RR) form of MS, and 20 healthy controls with 1.5T MRI. Quantitative susceptibility mapping (QSM) was performed to estimate iron concentration in the DGM. **Results.** Patients with NMO have higher magnetic susceptibility values in the substantia nigra compared to healthy controls. RRMS patients have lower magnetic susceptibility values in the thalamus compared to healthy controls and NMO patients. Atrophy of the thalamus, pulvinar, and putamen is significant both in RRMS compared to NMO patients and healthy controls. A correlation was found between the disability score (EDSS) and magnetic susceptibility in the putamen in RRMS. **Conclusions.** This study confirms that a disturbed cerebral iron homeostasis in patients with NMO occurs in different structures than in patients with RRMS. Increased magnetic susceptibility in substantia nigra in NMO and decreased magnetic susceptibility within the thalamus in RRMS were the only significant differences in the study sample. We could confirm that iron concentration in the thalami is decreased in RRMS compared to that in the HC group. Positive association was found between putaminal iron and EDSS in RRMS.

1. Introduction

MS and neuromyelitis optica (NMO) are inflammatory diseases of the central nervous system presenting with overlapping symptoms; therefore, their differential diagnosis cannot be based on clinical examination alone. The presence of aquaporin-4 immunoglobulin G (AQP4-IgG) in sera of NMO patients definitely distinguishes these two diseases [1]. Aquaporin-4 (AQP4) as a target antigen is expressed on the cell membrane of astrocytes and ependymal cell. Binding of AQP4-IgG to AQP4 can cause complement activation with subsequent cell destruction or internalization of AQP4 resulting in an impairment of osmotic balance. The majority of NMO patients have brain lesions, especially in areas with a high expression of AQP4 (diencephalic lesions surrounding

the third ventricles and cerebral aqueduct, dorsal brainstem lesions adjacent to the fourth ventricle, etc.); however, their morphology and location differ from lesions typically found in MS [2, 3]. Both entities also differ in pathology, in autoimmune mechanisms, and in the response to some immunotherapies. Neuroinflammatory and neurodegenerative changes in multiple sclerosis (MS) are associated with changes in cerebral iron accumulation as documented in MRI and neuropathological studies [4, 5]. Abnormal iron deposits have been detected in the deep gray matter (DGM), i.e., in the putamen, caudate nucleus, and globus pallidus and in a subset of white matter (WM) lesions using iron-sensitive MR techniques such as R2* relaxometry, magnetic field correlation imaging, phase imaging, and quantitative susceptibility mapping (QSM) [6–8]. On the

TABLE 1: Demographic and clinical data in NMO, RRMS, and HC groups.

	NMO	RRMS	HC	p
No. of subjects	20	40	20	—
Gender (male)	4 (20%)	8 (20%)	4 (20%)	1.0
Age (years)	48 ± 10	47 ± 9	50 ± 8	0.54
Disease duration (years)	11.4 ± 8.7	14.1 ± 8.2	—	0.25
EDSS (points)	4.5 ± 1.2 ^a	3.1 ± 1.6 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	<0.0001
Annual relapse rate	0.5 (0-3) ^b	0.0 (0-2) ^b	—	0.058

^aAll between-group difference significant (pairwise comparison), ^bmedian (range). Abbreviations: NMO: neuromyelitis optica; RRMS: remittent-relapsing multiple sclerosis; HC: healthy controls; EDSS: expanded disability status scale. Unless otherwise indicated, data are presented as mean ± standard deviation.

contrary, WM lesions in NMO patients do not contain increased iron deposits [9]. Previous studies brought inconsistent results as to whether there are any differences in the iron content of DGM structures between MS and NMO [4, 10].

The primary goal of this study was to compare iron content in DGM among patients with MS, NMO, and healthy subjects using QSM. The secondary goals were to investigate the correlation between iron deposition and clinical severity and to assess regional atrophy of the DGM using volumetric analysis in both patient groups.

2. Materials and Methods

This cross-sectional study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki, it was approved by the Ethics Committee of the General Faculty Hospital and First Medical Faculty, Charles University, and all participants signed informed consent. Between December 2013 and March 2015, 20 patients with NMO underwent MRI of the brain.

2.1. Study Subjects. An age- and sex-matched cohort of 20 healthy controls (1:1) and 40 patients with a relapsing-remitting (RR) form of MS (1:2) was examined within the same time frame. The group of RR MS and controls is partially overlapping with subjects included in our previous study [7]. All patients with RRMS fulfilled the revised McDonald criteria [11], and the diagnosis of NMO was based on Wingerchuk's diagnostic criteria [12]. Patients were examined by a specialist in demyelinating disorders. Neurological disability was evaluated by Kurtzke disability status scale (EDSS). All 20 NMO patients were AQP4-IgG positive; all samples were tested by commercially available immunofluorescence cell-based assay (CBA) using recombinant human M1-AQP4 (Euroimmun, Lübeck, Germany). Demographic data of the patients are shown in Table 1.

2.2. MRI. The examinations were performed using a 1.5T MR imaging system (Gyrosan NT; Philips Healthcare, Best, the Netherlands); a standard quadrature head coil was used. The protocol included FLAIR (150 axial sections, TR 1000 ms, TE 140 ms, TI 2600 ms, spatial resolution $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, scan duration 10 minutes and 16 seconds), T1-weighted imaging (fast-field echo/3D, 150 axial sections, TR 25 ms, TE 5.01 ms, spatial resolution $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, scan duration 12 minutes and 48 seconds), and susceptibility-weighted imaging

(fast-field echo/3D, 100 axial sections, TR 48.1 ms, TE 33.2 ms, spatial resolution $0.8 \times 0.8 \times 2.0 \text{ mm}^3$, scan duration 6 minutes and 30 seconds) pulse sequences.

2.3. Image Analysis. QSM images were reconstructed using a total generalized variation method as previously described [13]. Briefly, the reconstruction consisted of Laplacian unwrapping, background field removal, and dipole inversion by using the total generalized variation regularization in a single integrated step. QSM images were rigidly aligned with the T1-weighted images [7, 14]. Measurements of the volume and regional median bulk susceptibilities in parts per billion (ppb) were performed in the following regions of interest (ROIs) segmented on the T1-weighted images using the automated algorithm included in FreeSurfer, version 4.5 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>): globus pallidus (GP), putamen (Put), caudate nucleus (CN), and thalamus (Thal) (Figure 1). Additionally, the volume of the following structures was manually segmented on anonymized QSM images by a senior radiologist blinded to the diagnosis: pulvinar thalami (PT), nucleus ruber (NR), and the substantia nigra (SN); median bulk susceptibilities were extracted (Figure 2). QSM values were adjusted to a manually drawn ROI in the occipital white matter avoiding any lesions. The volume of cerebral structures was normalized using the residual approach method, which uses linear regression between the volume of the structure and the brain envelope [15].

2.4. Statistical Analysis. Statistical analysis was performed using SPSS 19 (IBM Corp., Armonk, NY) and R (the R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Matching of the groups was performed using the MatchIt function in R. To test for statistical significance among the study groups, we used ANOVA with Tukey's HSD post hoc tests, the Kruskal-Wallis test with Dunn's post hoc tests, and χ^2 test as appropriate. Correlation between EDSS and QSM was expressed as Spearman's rho coefficient. Two-tailed p values below 0.05 were considered significant.

3. Results and Discussion

3.1. Comparison of Magnetic Susceptibility among NMO, RRMS, and HC. NMO had higher bulk magnetic susceptibility values in the SN (107.2 ± 19.6) compared to healthy controls (91.0 ± 16.1 , $p = 0.030$) but not to RRMS (95.3 ± 22 , $p = 0.081$). RRMS had lower susceptibility in the thalamus

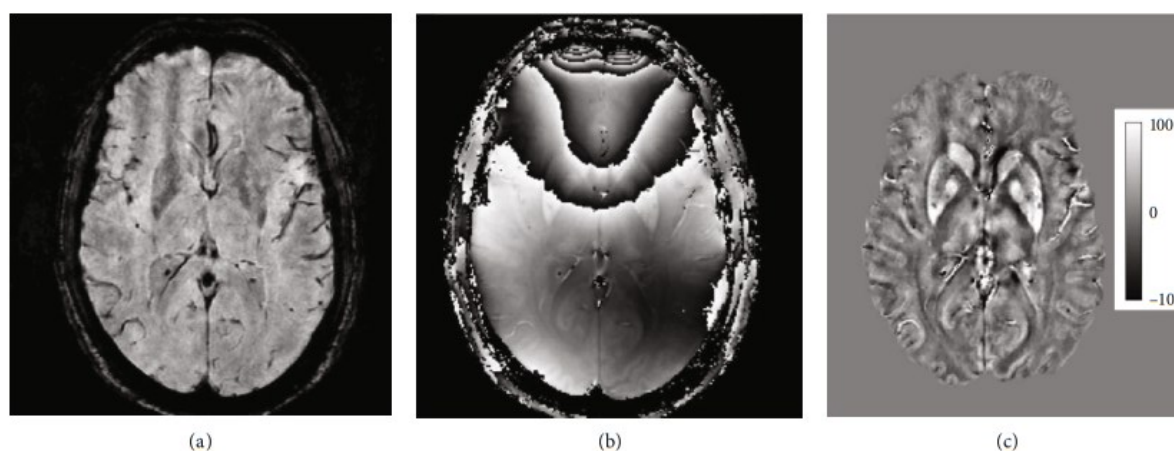


FIGURE 1: Example axial MR image slice depicting gradient-echo magnitude (a), raw phase (b), and quantitative susceptibility map (c). Magnetic susceptibility scale in ppb is shown.

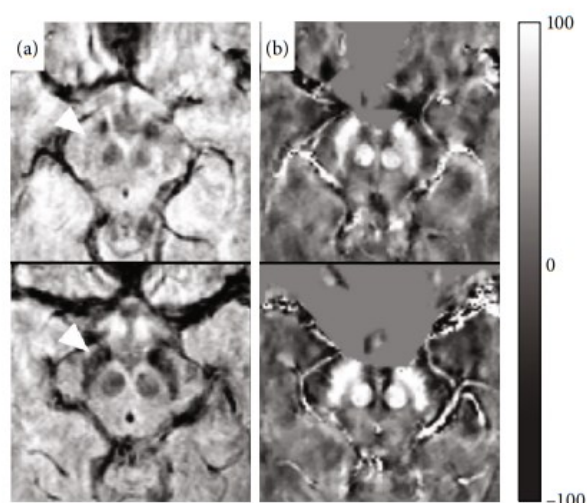


FIGURE 2: Comparison of axial images at the level of mesencephalon; gradient-echo magnitude (a) and quantitative susceptibility map (b) of a typical healthy control (upper row) and typical age-matched neuromyelitis optica patient (bottom row). The substantia nigra is denoted by white arrowhead. Magnetic susceptibility scale in ppb is shown.

(10.8 ± 5.6) compared to NMO (16.3 ± 6.3 , $p = 0.0086$) and HC (16.1 ± 8.2 , $p = 0.011$) (Table 2).

3.2. Volume of DGM, Comparison of NMO, RRMS, and HC.

The volume of the thalamus was smaller in RRMS patients (13.4 ± 1.2 ml) compared to HC (14.3 ± 0.7 ml, $p = 0.0094$) and NMO (14.2 ± 1.2 ml, $p = 0.023$). Significantly decreased volume in RRMS patients was also noted in the putamen and pulvinar, compared to NMO and RR (Table 3).

3.3. Association between Magnetic Susceptibility and Age.

There was a significant correlation of magnetic susceptibility values with age in the nucleus ruber ($r = 0.45$, $p = 0.0040$), the caudate nucleus ($r = 0.49$, $p = 0.0013$), and the putamen

($r = 0.51$, $p = 0.0007$) in RRMS. In NMO, the correlation of magnetic susceptibility with age was not significant in any of the evaluated structures.

3.4. Association between Magnetic Susceptibility and Disability.

A weak correlation was found between the EDSS disability score and magnetic susceptibility in the putamen ($r = 0.32$, $p = 0.046$) in RRMS only (Table 4).

This study showed that patients with NMO have higher magnetic susceptibility values in the substantia nigra compared to healthy subjects. RRMS patients have lower magnetic susceptibility values in the thalamus and greater atrophy of the putamen, thalamus, and pulvinar compared to healthy subjects and NMO patients. A positive correlation was found between the disability score (EDSS) and magnetic susceptibility in the putamen in RRMS.

In this work, we have confirmed that the pattern of iron deposition is different in NMO compared to RRMS patients. Notably, NMO patients have higher magnetic susceptibility in SN whereas other basal ganglia in NMO patients have susceptibility values comparable to healthy subjects. On the contrary to our result, Chen et al. [4] observed increased iron deposition in the bilateral SN in MS patients compared to the NMO and control groups. There are several possible reasons for this discrepancy. Firstly, compared to previous studies, NMO patients in our study are considerably older with longer disease duration. In the theoretical case of a steeper slope of age-related iron accumulation in NMO, the difference between patients and healthy controls may be apparent only in older subjects. Secondly, QSM may be superior in detecting abnormal iron deposits compared to other MR methods, such as phase imaging or $R2^*$ relaxometry, used in some previous studies [16]. Lastly, there is a difference between SN pars reticulata and pars compacta which have distinct iron levels and its concentration is regulated differently in these subregions [17]. Our segmentation based on QSM images also included the caudal layers of SN and could thus theoretically contain more of SN pars compacta. NMO is a relatively rare disorder, and therefore, previous studies targeting iron homeostasis in NMO included low number

TABLE 2: Mean adjusted magnetic susceptibility (in ppb) in deep gray matter structures.

	Mean susceptibility (\pm SD) (ppb)			<i>p</i>	Post hoc tests		
	HC	NMO	RRMS		HC-NMO	HC-RRMS	NMO-RRMS
Globus pallidus	83.7 \pm 11.1	91.0 \pm 19.2	83.6 \pm 16.1	0.21			
Nucleus ruber	67.4 \pm 17.4	71.7 \pm 17.8	66.6 \pm 19.5	0.60			
Caudate nucleus	41.1 \pm 10.1	36.9 \pm 11.2	39.3 \pm 10.8	0.59			
Pulvinar thalami	35.0 \pm 13.4	37.6 \pm 11.2	32.9 \pm 14.5	0.44			
Putamen	30.7 \pm 7.4	26.5 \pm 10.1	30.3 \pm 11.7	0.34			
Substantia nigra	91.0 \pm 16.1	107.2 \pm 19.6	95.3 \pm 21.6	0.030	0.032	0.69	0.081
Thalamus	16.1 \pm 8.2	16.3 \pm 6.3	10.8 \pm 5.6	0.0019	0.90	0.011	0.0086

Abbreviations: NMO: neuromyelitis optica; RRMS: remittent-relapsing multiple sclerosis; HC: healthy controls.

TABLE 3: Adjusted volume (ml) of the deep gray matter structures.

	Mean volume (\pm SD) (ml)			<i>p</i>	Post hoc tests		
	HC	NMO	RR		HC-NMO	HC-RRMS	NMO-RRMS
Globus pallidus	3.40 \pm 0.24	3.28 \pm 0.39	3.13 \pm 0.50	0.062			
Nucleus ruber	0.45 \pm 0.11	0.45 \pm 0.13	0.39 \pm 0.11	0.122			
Caudate nucleus	6.91 \pm 0.59	6.87 \pm 0.60	6.81 \pm 0.81	0.864			
Pulvinar thalami	1.46 \pm 0.31	1.54 \pm 0.35	1.07 \pm 0.61	0.0008	0.847	0.0136	0.0023
Putamen	9.94 \pm 0.75	10.02 \pm 0.75	9.20 \pm 0.91	0.0026	0.900	0.0194	0.0079
Substantia nigra	0.73 \pm 0.15	0.76 \pm 0.18	0.67 \pm 0.16	0.124			
Thalamus	14.32 \pm 0.73	14.22 \pm 1.21	13.38 \pm 1.24	0.0032	0.900	0.0094	0.023

Abbreviations: NMO: neuromyelitis optica; RRMS: remittent-relapsing multiple sclerosis; HC: healthy controls.

TABLE 4: Associations of EDSS with adjusted magnetic susceptibility values.

	NMO		RRMS	
	r_s	<i>p</i>	r_s	<i>p</i>
Globus pallidus	0.077	0.747	0.033	0.839
Nucleus ruber	0.109	0.647	0.245	0.128
Caudate nucleus	0.095	0.692	0.215	0.182
Pulvinar thalami	0.062	0.794	-0.090	0.580
Putamen	0.142	0.550	0.317	0.046
Substantia nigra	0.010	0.967	0.059	0.718
Thalamus	-0.064	0.789	0.120	0.462

r_s = Spearman's correlation coefficient; *p* = *p* value. Abbreviations: NMO: neuromyelitis optica; RRMS: remittent-relapsing multiple sclerosis.

of patients. Doring et al. found in a retrospective study of 6 female and 6 male patients with NMO that susceptibility values were decreased in the nucleus ruber with a greater difference in older subjects [10]. In our study, which included higher number of NMO patients with longer disease duration and which was better balanced in terms of the gender prevalence of MS, we were only able to account for age-dependent changes but could not confirm any between-group differences in magnetic susceptibility of the nucleus ruber. Unfortunately, Doring et al. did not include SN in their analysis.

Nevertheless, previous studies using diffusion tensor imaging (DTI) also suggested gray matter abnormalities in NMO [18] and abnormal pattern of movement-associated cortical activations in NMO depicted by a functional MRI study supported gray matter involvement in the disease [19].

Iron metabolism might reflect the chronic oxidative injury in NMO patients. It is still unclear whether iron metabolism is implicated in the pathogenesis of NMO [19]. The finding of isolated iron accumulation in SN resembles the pattern observed in Parkinson's disease (PD). Interestingly, recent animal study showed high perivascular density of AQP4 in the SN that was further increased in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) model of PD [20].

In this study, we confirmed that iron concentration in the thalami is decreased in RRMS compared to the HC group. This is consistent with the results of recently published works [7, 8, 21].

Apart from the brain disease and its variants, course, and duration [21], numerous other factors that result in iron deposition abnormalities have been identified including gene polymorphisms associated with iron regulation [22, 23]. Moreover, mere magnetic susceptibility of the tissue does not perfectly account for its iron content because iron occurs in forms with different magnetic properties. However, correlation between tissue magnetic susceptibility and iron concentration has been established in ex vivo studies

comparing MR, histopathologic sections, and measurement of iron concentration [16].

The magnetic susceptibility is not just a marker of the disease, but it is also independently associated with the clinical disability in MS patients. We showed that increased susceptibility in the putamen in RRMS patients is associated with higher EDSS. The correlation between iron concentration in putamen and clinical severity in MS is consistent with the results in previously published studies [24–26]. In contrast, Zivadinov et al. found a correlation between iron accumulation and disability only in globus pallidus [21]. Furthermore, he reported an association between disability and decreased iron in the thalamus.

This study showed that patients with MS have smaller volumes of the putamen, thalamus, and pulvinar compared to NMO and HC. Several studies have identified reduction in DGM volume in NMO patients [27–29]. The studies comparing regional GM atrophy in NMO and MS are rare and have inconsistent results. Although some studies found DGM atrophy in NMO restricted to the thalamus, the difference in our study was not significant [30, 31]. Nevertheless, patients with cognitive impairment exhibit a more severe atrophy. Decreased volume of the thalamus in NMO was shown in the study of Fan et al.; volume was smaller in the AQP4 (–) group and the MS group than that in the HC group [32]. Duan et al. found atrophy in NMO patients in several regions of frontal, temporal, parietal lobes, and insula but not in the DGM [27].

This study has several limitations. Firstly, the number of NMO patients enrolled in the study is relatively small given the paucity of this autoimmune disease. Secondly, we did not evaluate susceptibility changes in inflammatory lesions as has been previously done by other research groups using a 7T MR [2]. Thirdly, cross-sectional design provides no information regarding the temporal dynamics of iron accumulation. Iron deposition within white matter and inflammatory lesions should be the focus of further investigations as well as longitudinal settings of the study.

4. Conclusions

Our study confirms that a disturbed cerebral iron homeostasis in patients with NMO occurs in different structures than in patients with RRMS. Increased magnetic susceptibility in substantia nigra in NMO and decreased magnetic susceptibility within the thalamus in RRMS were the only significant differences in the study sample. We could confirm that iron concentration in the thalami is decreased in RRMS compared to that in the HC group. Positive association was found between putaminal iron and EDSS in RRMS. The iron metabolism might reflect the chronic oxidative injury. It is still unclear whether iron metabolism is implicated in the pathogenesis of NMO. The magnetic susceptibility is not just a marker of the disease, but it is also independently associated with the clinical disability; positive association was found between putaminal iron and EDSS in RRMS. However, as thalamic iron concentration shows a specific pattern of evolution in time, only longitudinal studies may support this association.

Data Availability

“The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.”

Disclosure

This work was presented as a poster atECTRIMS congress 2019, Stockholm.

Conflicts of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this work.

Acknowledgments

This study was supported by the Czech Ministry of Health grant (NV18-08-00062, 15-25602A, and RVO VFN64165) and by the Charles University in Prague grant (PROGRES Q27).

References

- [1] V. A. Lennon, D. M. Wingerchuk, T. J. Kryzer et al., “A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis,” *The Lancet*, vol. 364, no. 9451, pp. 2106–2112, 2004.
- [2] T. Sinnecker, S. Schumacher, K. Mueller et al., “MRI phase changes in multiple sclerosis vs neuromyelitis optica lesions at 7T,” *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, vol. 3, no. 4, p. e259, 2016.
- [3] H. J. Kim, F. Paul, M. A. Lana-Peixoto et al., “MRI characteristics of neuromyelitis optica spectrum disorder: an international update,” *Neurology*, vol. 84, no. 11, pp. 1165–1173, 2015.
- [4] X. Chen, C. Zeng, T. Luo et al., “Iron deposition of the deep grey matter in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica: a control quantitative study by 3D-enhanced susceptibility-weighted angiography (ESWAN),” *European Journal of Radiology*, vol. 81, no. 4, pp. e633–e639, 2012.
- [5] S. Du, S. K. Sah, C. Zeng et al., “Iron deposition in the gray matter in patients with relapse-remitting multiple sclerosis: a longitudinal study using three-dimensional (3D)-enhanced T2*-weighted angiography (ESWAN),” *European Journal of Radiology*, vol. 84, no. 7, pp. 1325–1332, 2015.
- [6] D. Cobzas, H. Sun, A. J. Walsh, R. M. Lebel, G. Blevins, and A. H. Wilman, “Subcortical gray matter segmentation and voxel-based analysis using transverse relaxation and quantitative susceptibility mapping with application to multiple sclerosis,” *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 42, no. 6, pp. 1601–1610, 2015.
- [7] A. Burgetova, P. Dusek, M. Vaneckova et al., “Thalamic iron differentiates primary-progressive and relapsing-remitting multiple sclerosis,” *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, vol. 38, no. 6, pp. 1079–1086, 2017.
- [8] F. Schweser, A. L. R. D. Martins, J. Hagemeyer et al., “Mapping of thalamic magnetic susceptibility in multiple sclerosis indicates decreasing iron with disease duration: a proposed mechanistic relationship between inflammation and oligodendrocyte vitality,” *NeuroImage*, vol. 167, pp. 438–452, 2018.

comparing MR, histopathologic sections, and measurement of iron concentration [16].

The magnetic susceptibility is not just a marker of the disease, but it is also independently associated with the clinical disability in MS patients. We showed that increased susceptibility in the putamen in RRMS patients is associated with higher EDSS. The correlation between iron concentration in putamen and clinical severity in MS is consistent with the results in previously published studies [24–26]. In contrast, Zivadinov et al. found a correlation between iron accumulation and disability only in globus pallidus [21]. Furthermore, he reported an association between disability and decreased iron in the thalamus.

This study showed that patients with MS have smaller volumes of the putamen, thalamus, and pulvinar compared to NMO and HC. Several studies have identified reduction in DGM volume in NMO patients [27–29]. The studies comparing regional GM atrophy in NMO and MS are rare and have inconsistent results. Although some studies found DGM atrophy in NMO restricted to the thalamus, the difference in our study was not significant [30, 31]. Nevertheless, patients with cognitive impairment exhibit a more severe atrophy. Decreased volume of the thalamus in NMO was shown in the study of Fan et al.; volume was smaller in the AQP4 (–) group and the MS group than that in the HC group [32]. Duan et al. found atrophy in NMO patients in several regions of frontal, temporal, parietal lobes, and insula but not in the DGM [27].

This study has several limitations. Firstly, the number of NMO patients enrolled in the study is relatively small given the paucity of this autoimmune disease. Secondly, we did not evaluate susceptibility changes in inflammatory lesions as has been previously done by other research groups using a 7T MR [2]. Thirdly, cross-sectional design provides no information regarding the temporal dynamics of iron accumulation. Iron deposition within white matter and inflammatory lesions should be the focus of further investigations as well as longitudinal settings of the study.

4. Conclusions

Our study confirms that a disturbed cerebral iron homeostasis in patients with NMO occurs in different structures than in patients with RRMS. Increased magnetic susceptibility in substantia nigra in NMO and decreased magnetic susceptibility within the thalamus in RRMS were the only significant differences in the study sample. We could confirm that iron concentration in the thalami is decreased in RRMS compared to that in the HC group. Positive association was found between putaminal iron and EDSS in RRMS. The iron metabolism might reflect the chronic oxidative injury. It is still unclear whether iron metabolism is implicated in the pathogenesis of NMO. The magnetic susceptibility is not just a marker of the disease, but it is also independently associated with the clinical disability; positive association was found between putaminal iron and EDSS in RRMS. However, as thalamic iron concentration shows a specific pattern of evolution in time, only longitudinal studies may support this association.

Data Availability

“The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.”

Disclosure

This work was presented as a poster at ECTRIMS congress 2019, Stockholm.

Conflicts of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this work.

Acknowledgments

This study was supported by the Czech Ministry of Health grant (NV18-08-00062, 15-25602A, and RVO VFN64165) and by the Charles University in Prague grant (PROGRES Q27).

References

- [1] V. A. Lennon, D. M. Wingerchuk, T. J. Kryzer et al., “A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis,” *The Lancet*, vol. 364, no. 9451, pp. 2106–2112, 2004.
- [2] T. Sinnecker, S. Schumacher, K. Mueller et al., “MRI phase changes in multiple sclerosis vs neuromyelitis optica lesions at 7T,” *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, vol. 3, no. 4, p. e259, 2016.
- [3] H. J. Kim, F. Paul, M. A. Lana-Peixoto et al., “MRI characteristics of neuromyelitis optica spectrum disorder: an international update,” *Neurology*, vol. 84, no. 11, pp. 1165–1173, 2015.
- [4] X. Chen, C. Zeng, T. Luo et al., “Iron deposition of the deep grey matter in patients with multiple sclerosis and neuromyelitis optica: a control quantitative study by 3D-enhanced susceptibility-weighted angiography (ESWAN),” *European Journal of Radiology*, vol. 81, no. 4, pp. e633–e639, 2012.
- [5] S. Du, S. K. Sah, C. Zeng et al., “Iron deposition in the gray matter in patients with relapse-remitting multiple sclerosis: a longitudinal study using three-dimensional (3D)-enhanced T2*-weighted angiography (ESWAN),” *European Journal of Radiology*, vol. 84, no. 7, pp. 1325–1332, 2015.
- [6] D. Cobzas, H. Sun, A. J. Walsh, R. M. Lebel, G. Blevins, and A. H. Wilman, “Subcortical gray matter segmentation and voxel-based analysis using transverse relaxation and quantitative susceptibility mapping with application to multiple sclerosis,” *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 42, no. 6, pp. 1601–1610, 2015.
- [7] A. Burgetova, P. Dusek, M. Vaneckova et al., “Thalamic iron differentiates primary-progressive and relapsing-remitting multiple sclerosis,” *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, vol. 38, no. 6, pp. 1079–1086, 2017.
- [8] F. Schweser, A. L. R. D. Martins, J. Hagemeyer et al., “Mapping of thalamic magnetic susceptibility in multiple sclerosis indicates decreasing iron with disease duration: a proposed mechanistic relationship between inflammation and oligodendrocyte vitality,” *NeuroImage*, vol. 167, pp. 438–452, 2018.

- [9] S. Chawla, I. Kister, J. Wuerfel et al., "Iron and non-iron-related characteristics of multiple sclerosis and neuromyelitis optica lesions at 7T MRI," *American Journal of Neuroradiology*, vol. 37, no. 7, pp. 1223–1230, 2016.
- [10] T. M. Doring, V. Granado, F. Rueda et al., "Quantitative susceptibility mapping indicates a disturbed brain iron homeostasis in neuromyelitis optica - a pilot study," *PloS One*, vol. 11, no. 5, article e0155027, 2016.
- [11] C. H. Polman, S. C. Reingold, B. Banwell et al., "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria," *Annals of Neurology*, vol. 69, no. 2, pp. 292–302, 2011.
- [12] D. M. Wingerchuk, V. A. Lennon, S. J. Pittock, C. F. Lucchinetti, and B. G. Weinshenker, "Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica," *Neurology*, vol. 66, no. 10, pp. 1485–1489, 2006.
- [13] C. Langkammer, K. Bredies, B. A. Poser et al., "Fast quantitative susceptibility mapping using 3D EPI and total generalized variation," *NeuroImage*, vol. 111, pp. 622–630, 2015.
- [14] A. Burgetova, Z. Seidl, J. Krasensky, D. Horakova, and M. Vaneczkova, "Multiple sclerosis and the accumulation of iron in the basal ganglia: quantitative assessment of brain iron using MRI T₂ relaxometry," *European Neurology*, vol. 63, no. 3, pp. 136–143, 2010.
- [15] O. Voevodskaya, A. Simmons, R. Nördenskjöld et al., "The effects of intracranial volume adjustment approaches on multiple regional MRI volumes in healthy aging and Alzheimer's disease," *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 6, 2014.
- [16] C. Langkammer, T. Liu, M. Khalil et al., "Quantitative susceptibility mapping in multiple sclerosis," *Radiology*, vol. 267, no. 2, pp. 551–559, 2013.
- [17] D. E. Huddleston, J. Langley, P. Dusek et al., "Imaging Parkinsonian Pathology in Substantia Nigra with MRI," *Current Radiology Reports*, vol. 6, no. 4, p. 15, 2018.
- [18] A. Pichiecchio, E. Tavazzi, G. Poloni et al., "Advanced magnetic resonance imaging of neuromyelitis optica: a multiparametric approach," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 18, no. 6, pp. 817–824, 2012.
- [19] L. Zhang, Z. Hong, X. Chen et al., "Iron metabolism in neuromyelitis optica patients," *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 347, no. 1–2, pp. 214–218, 2014.
- [20] A. Prydz, K. Stahl, M. Puchades et al., "Subcellular expression of aquaporin-4 in substantia nigra of normal and MPTP-treated mice," *Neuroscience*, vol. 359, pp. 258–266, 2017.
- [21] R. Zivadinov, E. Tavazzi, N. Bergsland et al., "Brain iron at quantitative MRI is associated with disability in multiple sclerosis," *Radiology*, vol. 289, no. 2, pp. 487–496, 2018.
- [22] D. Gemmati, G. Zeri, E. Orioli et al., "Polymorphisms in the genes coding for iron binding and transporting proteins are associated with disability, severity, and early progression in multiple sclerosis," *BMC Medical Genetics*, vol. 13, no. 1, p. 70, 2012.
- [23] J. Hagemeyer, M. Ramanathan, F. Schweser et al., "Iron-related gene variants and brain iron in multiple sclerosis and healthy individuals," *NeuroImage: Clinical*, vol. 17, pp. 530–540, 2018.
- [24] C. W. Tjoa, R. H. B. Benedict, B. Weinstock-Guttman, A. J. Fabiano, and R. Bakshi, "MRI T₂ hypointensity of the dentate nucleus is related to ambulatory impairment in multiple sclerosis," *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 234, no. 1–2, pp. 17–24, 2005.
- [25] Y. Zhang, L. M. Metz, V. W. Yong, and J. R. Mitchell, "3 T deep gray matter T₂ hypointensity correlates with disability over time in stable relapsing–remitting multiple sclerosis: A 3-year pilot study," *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 297, no. 1–2, pp. 76–81, 2010.
- [26] S. Ropele, I. D. Kilsdonk, M. P. Wattjes et al., "Determinants of iron accumulation in deep grey matter of multiple sclerosis patients," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 20, no. 13, pp. 1692–1698, 2014.
- [27] Y. Duan, Y. Liu, P. Liang et al., "Comparison of grey matter atrophy between patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study," *European Journal of Radiology*, vol. 81, no. 2, pp. e110–e114, 2012.
- [28] J.-B. Chanson, J. Lamy, F. Rousseau et al., "White matter volume is decreased in the brain of patients with neuromyelitis optica," *European Journal of Neurology*, vol. 20, no. 2, pp. 361–367, 2013.
- [29] F. von Glehn, S. Jarius, R. P. C. Lira et al., "Structural brain abnormalities are related to retinal nerve fiber layer thinning and disease duration in neuromyelitis optica spectrum disorders," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 20, no. 9, pp. 1189–1197, 2014.
- [30] Q. Wang, N. Zhang, W. Qin et al., "Gray matter volume reduction is associated with cognitive impairment in neuromyelitis optica," *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, vol. 36, no. 10, pp. 1822–1829, 2015.
- [31] J.-W. Hyun, G. Park, K. Kwak et al., "Deep gray matter atrophy in neuromyelitis optica spectrum disorder and multiple sclerosis," *European Journal of Neurology*, vol. 24, no. 2, pp. 437–445, 2017.
- [32] M. Fan, Y. Fu, L. Su et al., "Comparison of brain and spinal cord magnetic resonance imaging features in neuromyelitis optica spectrum disorders patients with or without aquaporin-4 antibody," *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, vol. 13, pp. 58–66, 2017.



Age-related magnetic susceptibility changes in deep grey matter and cerebral cortex of normal young and middle-aged adults depicted by whole brain analysis

Romana Burgetova^{1,2}, Petr Dusek^{1,3}, Andrea Burgetova^{1^}, Adam Pudlac¹, Manuela Vaneckova¹, Dana Horakova³, Jan Krasensky¹, Zsoka Varga³, Lukas Lambert¹

¹Department of Radiology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic;

²Department of Radiology, Third Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Královské Vinohrady, Prague, Czech Republic;

³Department of Neurology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic

Contributions: (I) Conception and design: P Dusek, A Burgetova, L Lambert; (II) Administrative support: A Burgetova, L Lambert, A Pudlac; (III) Provision of study materials or patients: D Horakova, Z Varga, P Dusek, M Vaneckova, J Krasensky; (IV) Collection and assembly of data: R Burgetova, M Vaneckova, P Dusek, J Krasensky, D Horakova; (V) Data analysis and interpretation: P Dusek, L Lambert, R Burgetova, A Burgetova; (VI) Manuscript writing: All authors; (VII) Final approval of manuscript: All authors.

Correspondence to: Assoc. prof. Andrea Burgetova, MD, PhD. First Faculty of Medicine Charles University and General Faculty Hospital in Prague, U nemocnice 2, 128 08 Prague 2, Czech Republic. Email: andrea.burgetova@vfn.cz.

Background: Iron accumulates in brain tissue in healthy subjects during aging. Our goal was to conduct a detailed analysis of iron deposition patterns in the cerebral deep grey matter and cortex using region-based and whole-brain analyses of brain magnetic susceptibility.

Methods: Brain MRI was performed in 95 healthy individuals aged between 21 and 58 years on a 3T scanner. MRI protocol included T1-weighted (T1W) magnetization-prepared rapid acquisition with gradient echo images and 3D flow-compensated multi-echo gradient-echo images for quantitative susceptibility mapping (QSM). In the region-based analysis, QSM and T1W images entered an automated multi-atlas segmentation pipeline and regional mean bulk susceptibility values were calculated. The whole-brain analysis included a non-linear transformation of QSM images to the standard MNI template. For the whole-brain analysis voxel-wise maps of linear regression slopes β and P values were calculated. Regional masks of cortical voxels with a significant association between susceptibility and age were created and further analyzed.

Results: In cortical regions, the highest increase of susceptibility values with age was found in areas involved in motor functions (precentral and postcentral areas, premotor cortex), in cognitive processing (prefrontal cortex, superior temporal gyrus, insula, precuneus), and visual processing (occipital gyri, cuneus, posterior cingulum, fusiform, calcarine and lingual gyrus). Thalamic susceptibility increased until the fourth decade and decreased thereafter with the exception of the pulvinar where susceptibility increase was observed throughout the adult lifespan. Deep grey matter structures with the highest increase of susceptibility values with age included the red nucleus, putamen, substantia nigra, dentate nucleus, external globus pallidus, caudate nucleus, and the subthalamic nucleus in decreasing order.

Conclusions: Accumulation of iron in basal ganglia follows a linear pattern whereas in the thalamus, pulvinar, precentral cortex, and precuneus, it follows a quadratic or exponential pattern. Age-related changes of iron content are different in the pulvinar and the rest of the thalamus as well as in internal and external globus pallidus. In the cortex, areas involved in motor and cognitive functions and visual processing show the highest iron increase with aging. We suggest that the departure from normal patterns of regional brain iron trajectories during aging may be helpful in the detection of subtle neurodegenerative and neuroinflammatory processes.

Keywords: Magnetic susceptibility; iron; aging; brain; deep grey matter; cerebral cortex

Submitted Jan 23, 2021. Accepted for publication Apr 19, 2021.

doi: 10.21037/qims-21-87

View this article at: <http://dx.doi.org/10.21037/qims-21-87>

Introduction

During the lifespan, the human brain undergoes microstructural changes including grey matter atrophy, myelin degeneration, or iron accumulation that can be picked *in vivo* by various quantitative MRI techniques (1-4). Knowledge about the spectrum of age-related changes in brain structure and associated MR parameters is important for understanding the neurobiology of aging and for differentiating physiological aging from disease.

Magnetic susceptibility, a measure that indicates the extent to which a material may be magnetized in external magnetic field, can be quantified in tissues by a recent MR technique called quantitative susceptibility mapping (QSM) (5). While magnetic susceptibility of cerebral tissue may be influenced by myelin, calcium, or deoxyhemoglobin, it is mainly determined by ferritin-iron content in the basal ganglia and other grey matter structures (6). QSM is thus considered as a surrogate measure of iron content in the grey matter (7,8).

Cerebral accumulation of non-heme iron occurs during normal aging. This increase occurs heterogeneously in certain cell types and brain regions such as basal ganglia, hippocampus, motor cortex, cerebellar nuclei, and other subcortical brain regions (9-13). Globus pallidus, substantia nigra, red nuclei, and putamen are regions with the highest iron deposition (14-16).

Iron is involved in numerous pathways in the brain such as oxygen transportation, oxidative phosphorylation, DNA synthesis, mitochondrial respiration, myelin synthesis, antioxidant enzyme activation, and metabolism of neurotransmitters (13). On the other hand, disturbance of iron homeostasis can lead to brain neurotoxicity by different mechanisms such as membrane damage, protoxin bioactivation, aberrant cell signaling, bioenergetic failure, proteosomal and mitochondrial dysfunction, protein aggregation and inclusion formation, electrophysiological derangements, and synaptolysis, conveying all of these factors on apoptosis, necrosis or a specific cell death triggered by iron called ferroptosis (13,17,18). Increased subcortical iron is associated with decreased cognitive and motor functions in the elderly population (14,19,20)

suggesting that basal ganglia may be more vulnerable to iron accumulation throughout aging, exposing them to an increased risk of neurodegeneration or/and neuroinflammation. Understanding normal patterns of iron accumulation with aging might thus assist in identifying subjects who are at greater risk of accelerated neurodegeneration.

The majority of previous studies examining iron accumulation during normal aging were based on region-of-interest analysis of deep grey matter on R2* relaxometry and magnetic susceptibility maps (21-27). Whole-brain analysis, which is not limited to a priori predefined regions, has been used only sparsely for studying age-related changes of magnetic susceptibility and, by extension, of iron levels (28,29).

The objective of this study was to conduct a detailed analysis of iron deposition patterns not only in the cerebral deep grey matter but also in the cortex by a voxel-wise analysis of QSM at the whole-brain level and using region-based analysis.

Methods

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (as revised in 2013). This study was approved by the Ethics Committee of the General University Hospital in Prague (ID1018/17), and all subjects signed informed consent.

Study participants

Brain MRI was performed in 95 healthy individuals (57 females and 38 males) aged between 21 and 58 (mean \pm SD = 37 \pm 10) years, who responded to an announcement presented at the First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague and met the following inclusion criteria: (I) willing to sign an informed consent in accordance with local regulations, (II) age 18–60 years (chosen to be comparable to that of adult patients with multiple sclerosis). The exclusion criteria were: (I) unable to undergo MRI examination, (II) unable to be examined 4 times during the next three years at 0, 12, 24,

36 months, (III) pregnancy at the time of enrollment into the study, (IV) any diseases, medical conditions, or brain MRI abnormalities that could influence the structure of the brain or spinal cord.

Imaging protocol

The examination was performed on a 3T MRI scanner (Siemens Skyra 3T, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) with a 32-channel birdcage head coil. MRI protocol included T1-weighted 3D Magnetization-Prepared Rapid Acquisition with Gradient Echo (MPRAGE) images (T1WI) in sagittal plane with the following acquisition parameters: repetition time (TR), 2,300 ms; echo time (TE), 2.96 ms; inversion time (TI) 900 ms; flip angle (FA) 9°; field of view (FOV) 176×256×256 mm; spatial resolution 1.0×1.0×1.0 mm³ for anatomical imaging, and segmentation and 3D flow-compensated multi-echo gradient-echo (GRE) images in axial plane (TR = 33 ms; first TE = 4.5 ms, uniform echo spacing = 5 ms, last TE = 29.5 ms, number of echoes = 6; FA = 18°; FOV = 195×240×164 mm; spatial resolution = 0.94×0.94×0.94 mm³) for QSM.

QSM processing

QSM was processed by a multi-scale dipole inversion algorithm implemented in QSMbox software package (<https://gitlab.com/acostaj/QSMbox>) (7,30). T1WI (i.e., MPRAGE) images were transferred into the QSM space by rigid-body registering to the first echo magnitude image from the GRE pulse sequence, using the SPM12 (Statistical Parametric Mapping) tool, (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12) (31) and skull stripped by multiplying with an SPM-based brain binary mask calculated by QSMbox. Co-registered skull-stripped QSM and T1WI entered an automated multi-atlas segmentation pipeline using dual, i.e., QSM/T1, contrast for delineation of DGM nuclei (32) implemented at a cloud-based platform (www.mricloud.org) (33). Subsequently, segmented volumes were eroded by one voxel, and mean bulk susceptibility values of the following regions of interest (ROI) were extracted: internal globus pallidus, external globus pallidus, putamen, caudate nucleus, thalamus, pulvinar, substantia nigra, red nucleus, dentate nucleus, subthalamic nucleus, and total white matter (Figure 1). Magnetic susceptibility values from both hemispheres were averaged and further analyzed as (I) raw uncorrected values and (II) values referenced to the mean

bulk magnetic susceptibility of the total white matter. Notably, the total white matter was segmented by the automatic algorithm and its mean bulk susceptibility thus represents a highly reproducible operator independent measurement.

T2 maps processing*

T2* relaxation maps were calculated from multi-echo GRE magnitude images using non-linear least squares fitting according to the Levenberg-Marquardt algorithm (MRI Processor v.1.1.6, ImageJ 1.51k; T2* values were capped at 100 ms, the maximum number of iterations was 100, and forced no bias). T2* relaxation maps were used for whole-brain analysis.

Whole-brain analysis

The analysis was based on a procedure described previously (28). Briefly, a linear pre-registration (antsRegistration) and non-linear transformation (antsApplyTransformation) of susceptibility and T2* relaxation maps to the standard MNI template (MNI152 “ICBM 2009c Nonlinear Symmetric”) was performed using ANTS package ver. 2.1.0 (34). To compensate for a small mismatch in registration, we applied a median filter followed by a maximum intensity filter, both calculated across a sphere with a diameter of 3 mm. This approach was chosen empirically—we have visually compared the output images after eleven different combinations of filters (median spherical, median cubic, Gaussian spherical) with different kernel sizes applied. The selected combination of filters yielded images with a reasonable level of noise and detail and it appeared to be the most suitable approach for co-registration of susceptibility and T2* relaxation maps; the median filter removed both positive and negative signal values caused by vessels while the maximum intensity spherical filter (3 voxels in diameter) compensated for imperfections in co-registration of narrow structures (especially the gyri) to the MNI152 template.

In a post-hoc analysis, a mask of cortical voxels with a significant association of magnetic susceptibility and age was created. This mask was overlaid onto an anatomical T1 template and nine ROIs consisting of voxels from this mask were manually segmented using ITK-SNAP (www.itksnap.org) (35): precentral gyrus, postcentral gyrus, dorsolateral prefrontal cortex, medial prefrontal cortex, insular cortex,

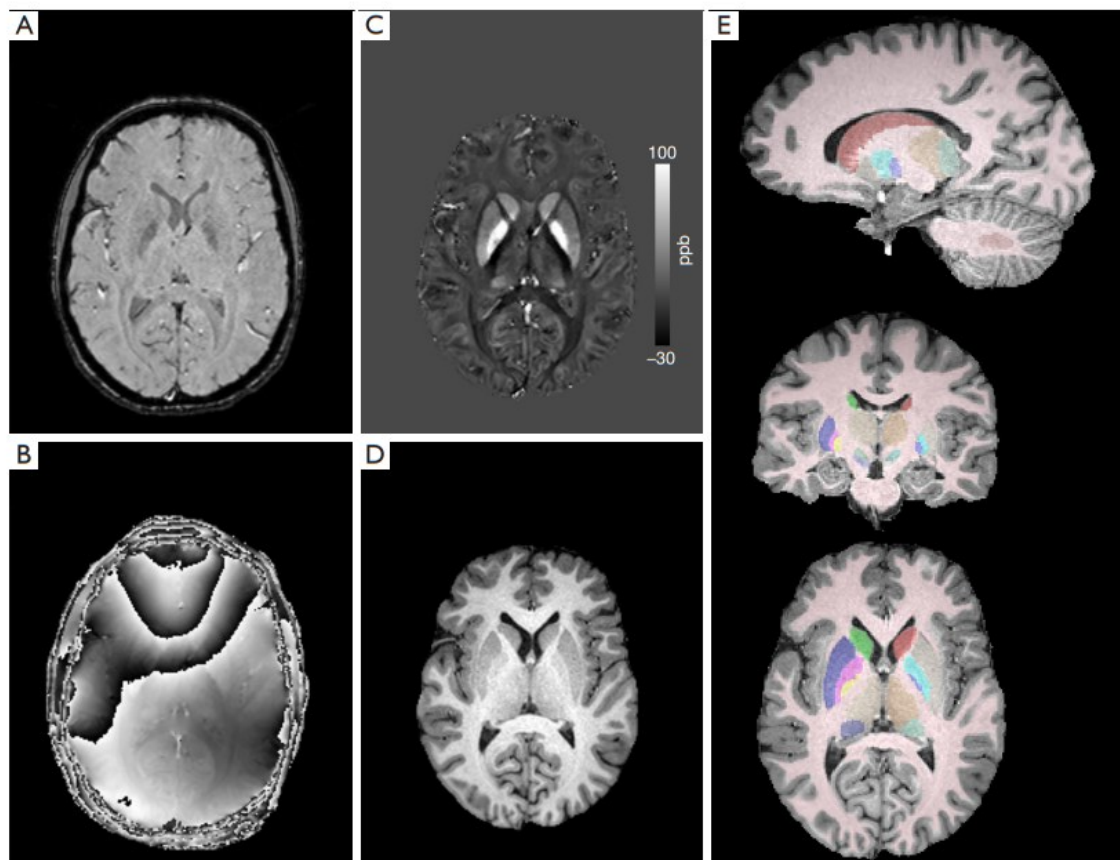


Figure 1 Illustration of MRI data processing. Example (A) magnitude and (B) raw phase (TE =24.5 ms) GRE images; (C) reconstructed QSM image and (D) coregistered skull-stripped T1-weighted anatomical image that were used for automatic multiatlas segmentation; (E) automatically segmented regions of interest overlaid onto anatomical image. ppb, parts per billion; GRE, gradient recalled echo; TE, echo time; QSM, quantitative susceptibility mapping.

precuneus, occipital cortex, occipito-temporal cortex, and cerebellar vermis (Figure S1). Individual mean bulk magnetic susceptibility values from these ROIs were retrieved and further analyzed as described for deep grey matter ROIs (25).

Statistics

Univariate regression analysis for regional age-related magnetic susceptibility changes was performed with linear and non-linear (quadratic and exponential) models and the model with the best fit based on Akaike information criterion with correction for small sample sizes (AICc), R^2 , and root mean squared error (RMSE) was selected. For linear relationships, regression slope (β) was expressed in

parts per billion (ppb)/year and its difference from zero was tested by the F test.

The exponential model was based on one-phase association and the susceptibility values were fitted with the following equation: $\text{susceptibility} = A \cdot (1 - \exp[-B \cdot \text{age}]) + C$, where A, B, and C are tissue-specific parameters (25). Holm-Bonferroni method was applied to correct for multiple hypothesis testing. Statistical analyses were carried out using Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Whole-brain analyses of age-related magnetic susceptibility and T2* relaxation time changes were performed using SPM12. Statistical maps were generated using a cluster definition threshold of $P < 0.005$ (uncorrected) and clusterwise family-wise error (FWE)-corrected threshold of $P < 0.05$. Voxel-wise maps of linear regression

slopes β were visualized using MRICroGL (<http://www.nitrc.org/projects/mricrogl>); anatomical locations of significant clusters were retrieved from the Atlas of Intrinsic Connectivity of Homotopic Areas (AICHA) (36).

Results

ROI-based analysis

The age-related increase of magnetic susceptibility in the basal ganglia followed a linear pattern, but in the thalamus and pulvinar, it followed a quadratic and exponential pattern, respectively (Figure 2, Table S1). Deep grey matter structures with a significant linear increase of raw bulk magnetic susceptibility included the red nucleus ($\beta=1.30$, $P<0.001$), putamen ($\beta=0.89$, $P<0.001$), substantia nigra ($\beta=0.76$, $P<0.001$), dentate nucleus ($\beta=0.73$, $P=0.002$), external globus pallidus ($\beta=0.62$, $P<0.001$), caudate nucleus ($\beta=0.46$, $P<0.001$), and subthalamic nucleus ($\beta=0.43$, $P=0.024$). The effect of age was not significant for the internal globus pallidus ($\beta=0.20$, $P=0.15$). In the thalamus, magnetic susceptibility increased until the age of 40 years and decreased thereafter. In the pulvinar, susceptibility increase was followed by a relative flattening of the curve from the age of 40 years onwards. Analysis of magnetic susceptibility referenced to the total white matter value returned similar results (Figures S2,S3), whereby mean magnetic susceptibility in the total white matter showed a mild linear positive effect of age ($\beta=0.03$, $P=0.002$).

Whole-brain analyses

Results of the whole-brain QSM analysis documenting magnetic susceptibility increase in ppb per year are shown in Figure 3 and Table 1. In addition to deep grey matter structures, multiple cortical regions with a positive association of magnetic susceptibility and age were identified in the precentral and postcentral areas, medial and dorsolateral prefrontal cortex, superior temporal gyrus and insula, posteriorly in the superior, lateral, and medial occipital gyri, precuneus, cuneus, posterior cingulate, fusiform, calcarine and lingual gyri ($P<0.05$, FWE-corrected). In the cerebellum, the vermis and tonsils showed a significant positive correlation with age ($P<0.05$, FWE-corrected). Spatial coordinates and anatomical labeling of clusters with significant age-related magnetic susceptibility increase are listed in Table 1.

Several regions showed magnetic susceptibility decrease

with age, although the effect was much smaller compared to areas with susceptibility increase reaching β not greater than -0.2 ppb per year ($P<0.05$, FWE-corrected). These regions include distinct white matter areas, particularly the rostrum of the corpus callosum, external capsulae, mesencephalic tectum and tegmentum, and frontal and temporal subcortical regions. Several extracerebral regions, the choroid plexus, falx cerebri, and venous sinuses showed age-related susceptibility decrease with β up to -1.0 ppb per year ($P<0.05$, FWE-corrected).

Post-hoc analysis of magnetic susceptibility in cortical regions with a significant effect of age showed its linear increase in the postcentral, dorsolateral prefrontal, medial prefrontal, insular, occipital cortices, precuneus, and cerebellar vermis ($\beta\approx 0.2$, $P<0.001$). In the precentral gyrus and temporo-occipital gyrus, magnetic susceptibility followed a quadratic pattern with a relatively steep increase until the age of 40 years and flattening of the curve afterwards (Figure 4).

Results of T2* analysis are shown in Figure S4 and Table S2. The results are similar to QSM however, a larger number of areas correlate with age. Compared to QSM, associations are evident also in the white matter.

Discussion

In this study, we quantified age-related changes of magnetic susceptibility in deep grey matter structures and the cerebral cortex in a cohort of adult healthy individuals using whole-brain and ROI-based analyses. We found a linear association between age and magnetic susceptibility in deep grey matter structures including the red nucleus, putamen, substantia nigra, dentate nucleus, external globus pallidus, and caudate nucleus. In the thalamus, quadratic association with age was observed with magnetic susceptibility increasing before and decreasing after the age of 40 years. Whole-brain QSM analysis documented that beyond these regions, there is a significant positive association between age and magnetic susceptibility in extensive areas of the cerebral cortex—in the frontal lobes, Rolandic area, insular area, precuneus, cuneus, posterior cingulum, and lingual gyrus. Whole-brain T2* analysis showed a similar pattern of age-related changes. In opposite to susceptibility, which showed a positive effect of age only in grey matter, areas of age-related T2* relaxation times shortening overlapped grey and white matter structures. This is likely caused by the fact that in QSM, the paramagnetic effect of accumulating iron and the diamagnetic effect of maturing myelin counteract

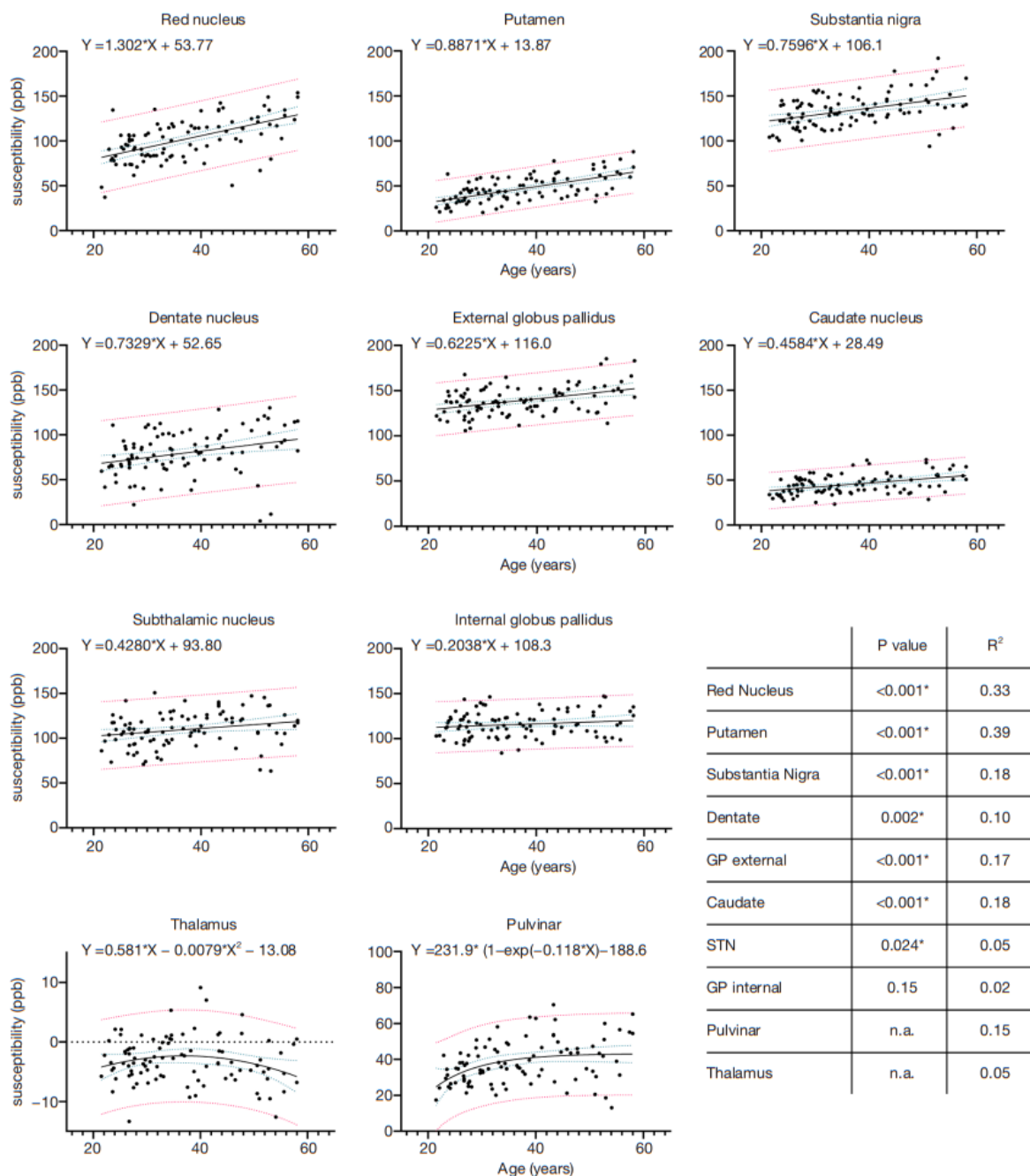


Figure 2 Bulk magnetic susceptibility values in ppb in deep gray matter structures as a function of age with their respective regression fits and coefficients. Blue dotted lines represent 95% confidence bands of the regression fit and red dotted lines represent 95% population prediction bands. Please note different Y-axis range for thalamus and pulvinar. ppb, parts per billion; GP, globus pallidus, STN, subthalamic nucleus.

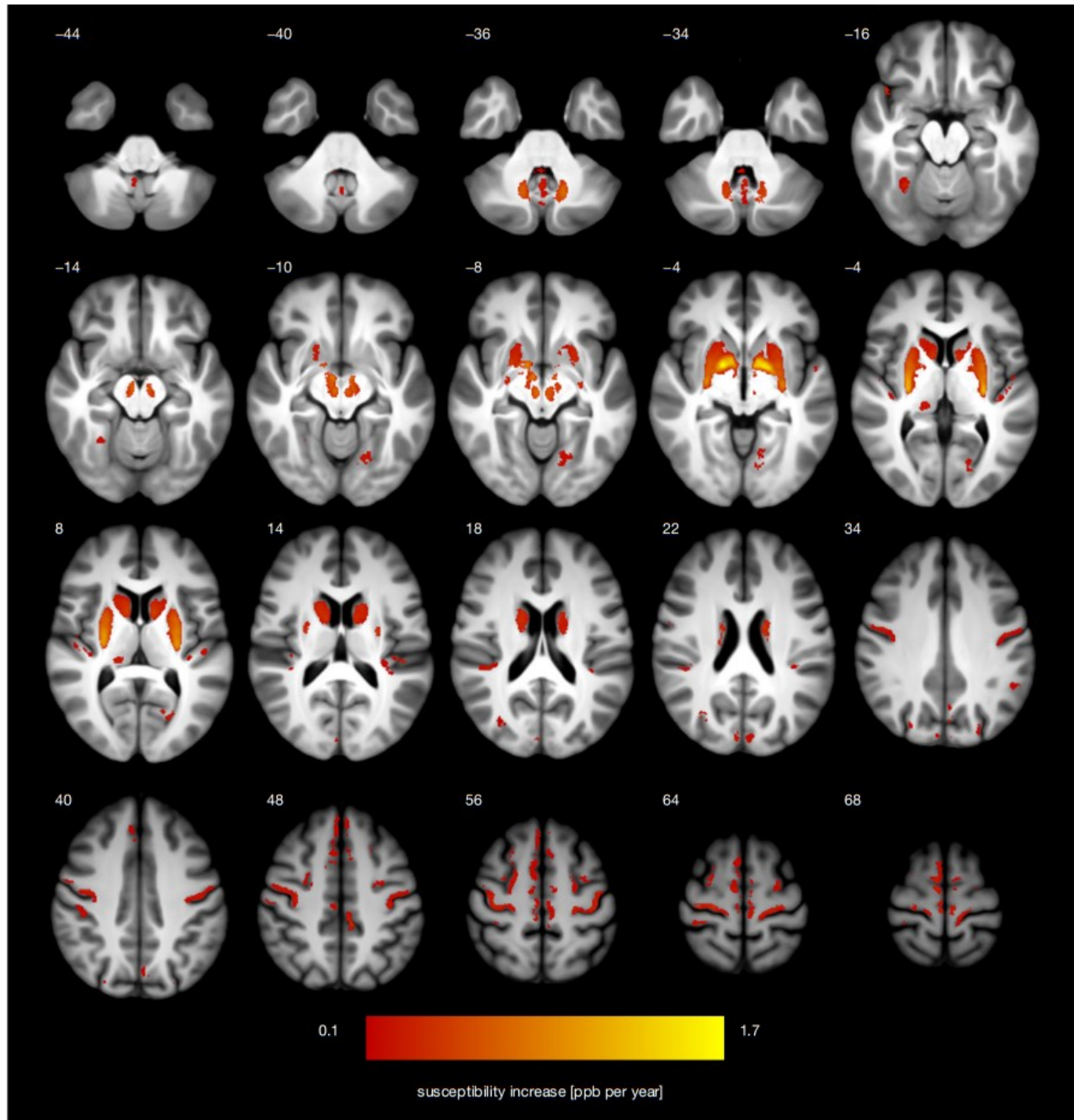


Figure 3 Statistical map of age-related susceptibility changes in the brain of normal adults represented as mean bulk susceptibility increase in ppb per year (thresholded at $P < 0.05$ at cluster level and corrected for family-wise error; initial cluster definition threshold was set to $P < 0.005$ uncorrected). Z-coordinate in the MNI space in [mm] is indicated for each slice. ppb, parts per billion; MNI, Montreal Neurological Institute.

Table 1 Clusters with significant age-related susceptibility increase identified by whole brain analysis with corresponding anatomical locations

Cluster volume [mm ³]	Peak susceptibility change [ppb/year]	Peak T value	MNI coordinates [mm]			Peak structure	Anatomical structures within cluster
			X	Y	Z		
10,477	1.7	10.7	16	1	-5	Putamen*	Right putamen, pallidum, caudate, substantia nigra, red nucleus*
10,018	1.5	10.3	-14	1	-4	Putamen*	Left putamen, pallidum, caudate, substantia nigra, red nucleus*
464	0.8	5.1	-15	-60	-37	Dentate*	Left dentate*
369	0.7	4.9	15	-58	-37	Dentate*	Right dentate*
3,126	0.5	7.0	-41	-11	56	Precentral gyrus	Left precentral gyrus, paracentral lobule
685	0.5	4.9	-23	-68	7	Calcarine gyrus	Left calcarine, lingual, fusiform gyri, parietooccipital sulcus
914	0.4	4.8	-41	-21	4	Superior temporal gyrus	Left superior temporal gyrus, posterior insula
3,628	0.4	6.4	23	-22	63	Precentral gyrus	Right precentral gyrus, paracentral lobule
811	0.4	4.8	45	-16	0	Superior temporal gyrus	Right superior temporal, supramarginal gyri, posterior insula
1,902	0.4	5.0	-8	-35	47	Cingulate sulcus	Left cingulate sulcus, superior frontal gyrus, paracentral lobule
252	0.3	6.4	29	-54	-16	Fusiform gyrus	Right fusiform, lateral occipital gyri
303	0.3	4.7	5	-88	30	Superior occipital gyrus	Right superior occipital, calcarine gyri, cuneus
3,779	0.3	6.3	4	-26	66	Paracentral lobule	Right paracentral lobule, cingulate sulcus, superior frontal gyri
210	0.3	4.7	-25	-76	28	Middle occipital gyrus	Left middle occipital, angular gyri, intraoccipital sulcus
442	0.3	3.8	13	-30	0	Thalamic pulvinar*	Right thalamus*
485	0.3	5.3	2	-55	-36	Cerebellum	Cerebellar vermis
1,503	0.3	5.4	23	11	63	Superior frontal sulcus	Right superior frontal gyrus and sulcus, precentral sulcus
193	0.3	4.9	-4	-81	26	Cuneus	Left cuneus, calcarine, superior occipital gyri
383	0.3	4.1	35	11	25	Inferior frontal gyrus	Right inferior frontal gyrus, precentral sulcus
326	0.3	4.9	-2	-74	34	Parietooccipital sulcus	Left parietooccipital sulcus, precuneus
635	0.2	4.6	45	-25	43	Postcentral sulcus	Right postcentral sulcus and gyrus
1,241	0.2	4.7	-33	-4	54	Superior frontal gyrus	Left superior frontal sulcus and gyrus, precentral sulcus
427	0.2	4.2	26	-73	29	Middle occipital gyrus	Right middle occipital, angular gyri, intraoccipital, intraparietal sulci
239	0.2	3.9	-50	-47	32	Supramarginal gyrus	Left supramarginal, inferior parietal gyri
373	0.2	4.1	-6	-66	-58	Cerebellum	Left and right cerebellar tonsils

*Deep gray matter structures.

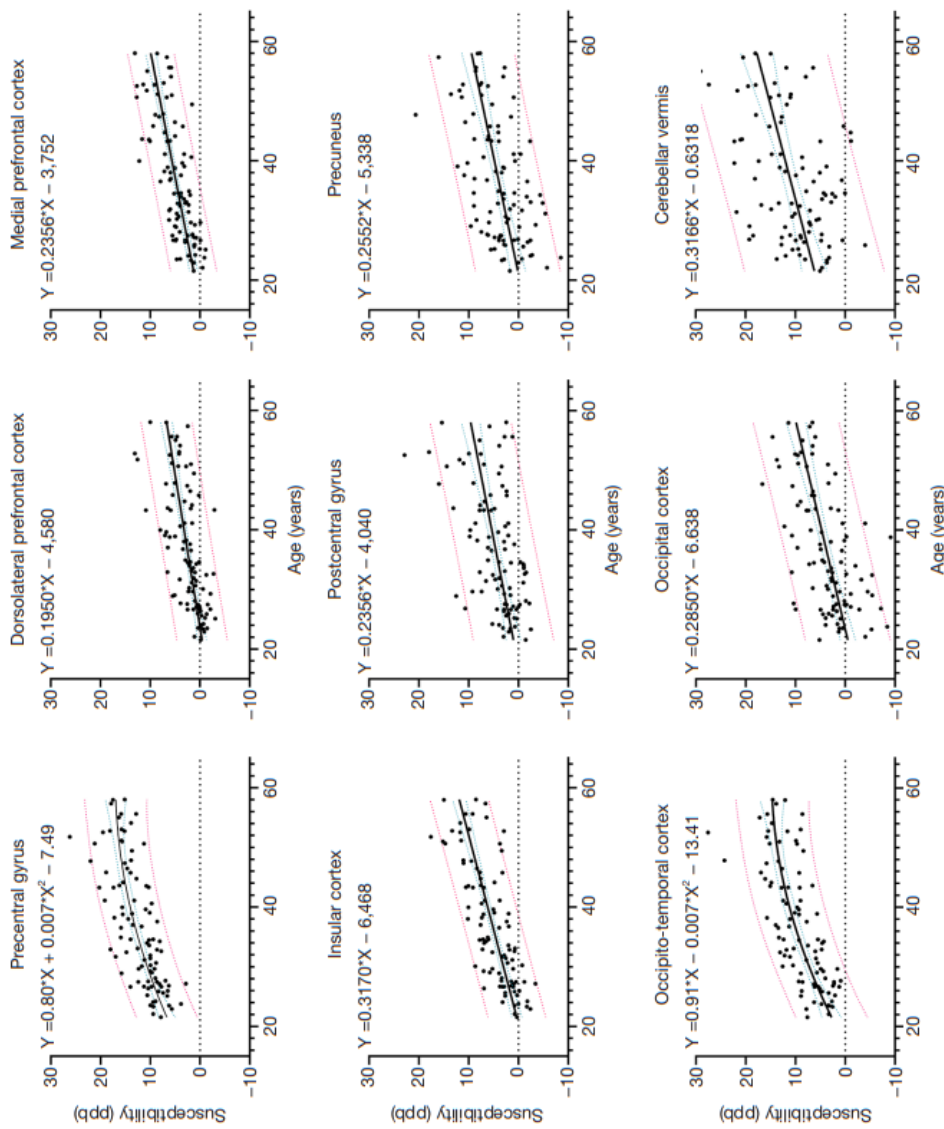


Figure 4 Uncorrected bulk magnetic susceptibility values in ppb in cortical regions of interest as a function of age with their respective regression fits. Blue dotted lines represent 95% confidence bands of the regression fit and red dotted lines represent 95% population prediction bands. ppb, parts per billion; DLPFC, dorsolateral prefrontal cortex; MPFC, medial prefrontal cortex.

	P value	R ²
Precentral	n.a.	0.52
DLPFC	<0.001*	0.39
MPFC	<0.001*	0.53
Insular	<0.001*	0.57
Postcentral	<0.001*	0.27
Precuneus	<0.001*	0.28
Occipito-temporal	n.a.	0.51
Occipital	<0.001*	0.33
Vermis	<0.001*	0.18

each other in the white matter, while in T2* maps, both, iron accumulation and myelin maturation with aging, cause local magnetic field inhomogeneities and thus contribute to the shortening of T2* relaxation times. This effect was particularly noted in subcortical white matter regions which are known to accumulate iron. Comparison of QSM and T2* map analyses indicates that the former may be more suitable for the assessment of age-related iron changes in the cortical regions.

It is well known that the trajectory of brain iron accumulation during the lifespan is not linear. A sharp increase of tissue iron concentration (15) and subsequently of magnetic susceptibility (25,27,37) during the first two decades is followed by flattening of the curve or even decrease at old age. Results of this study indicate the evolution of susceptibility values is linear between the age of 20 and 60 years for most deep grey matter and cortical structures. It is likely that regions that showed an exponential relationship between age and magnetic susceptibility in the current study, i.e., pulvinar, motor and occipito-temporal cortices, exhibit less abrupt initial iron accumulation with flattening of the curve shifted to an older age.

We found the largest effect of age on magnetic susceptibility (the steepest regression slope) in the red nucleus and putamen, which is consistent with previous studies (11,27,38). The red nucleus has been previously less investigated and, in some studies, the absolute magnitude of susceptibility increase was higher for the red nucleus than for the putamen (22,27,29), similarly as in our study. Our observation of milder gradual increase of magnetic susceptibility in the caudate nucleus, substantia nigra, and dentate nucleus is also concordant with post-mortem evidence (16) and several previous *in vivo* MRI studies (9,13,14,27,28).

In the pallidum, previous works reported contradictory findings including no age-related susceptibility changes (23,27,28), or mild iron accumulation during adulthood (22). A meta-analysis of 20 MRI studies that estimated iron content in the caudate nucleus, globus pallidus, putamen, red nucleus, and substantia nigra, documented the lowest age-related differences in globus pallidus although it was generally rich in iron in absolute value (11). Studies that included infants showed an exponential pattern with a steeply increasing iron concentration as well as magnetic susceptibility from birth and a plateau from the 3rd decade onwards (13,14,16,38-40). However, these studies did not aim at analyzing specifically the pallidal iron content trajectory during the adult lifespan. Our results indicate

that the reason for contradictory findings may be the differential contribution of external and internal globus pallidus depending on segmentation strategy. In contrast to the internal part, the external part, which is adjacent to the putamen, showed a linear increase of susceptibility during aging in the current study. A similar effect was observed for R2* transverse relaxivity in another study that segmented internal and external globus pallidus (29). These results indicate distinct regulation of iron concentration in pallidal subregions and suggest that internal and external globus pallidus should be analyzed separately for proper assessment of disease-related changes in this structure.

Thalamus presents an overall low iron content and it was suggested that myelin contributes by a large degree to its susceptibility masking the effect of small age-related changes in iron content (41). On the other hand, the bidirectional pattern with an initial increase until the age of 40 years followed later by a decrease of magnetic susceptibility observed in the current and a previous study (42) conspicuously matches age-related changes in the thalamic iron concentration measured in *post mortem* tissue (15). It is thus likely that thalamic susceptibility is mostly driven by the effect of iron, similarly as in the basal ganglia. Contrary to some previous studies (27), we and others have found a positive age-related magnetic susceptibility increase in the pulvinar (42,43). It is interesting to point up the differences between pulvinar and other thalamic nuclei. The pulvinar, although being a posterior part of the thalamus, is visually discernible on QSM and behaves unlike other thalamic nuclei. Zhang *et al.* (42) suggests that in the medial and lateral nuclei of the thalamus susceptibility follows a bidirectional pattern while anterior nuclei and pulvinar display gradual susceptibility increase with age. Overall, there is converging evidence that MRI metrics sensitive to iron content should be analyzed separately for pulvinar and other thalamic nuclei.

Age-related changes in iron distribution in the cerebral and cerebellar cortex *in vivo* have been much less investigated. It may be related to the fact that the cerebral cortex has more complex and variable anatomy than deep grey matter nuclei and its automatic analysis at a group level requires non-linear transformation to match corresponding regions among subjects. Further challenges include the thinning of the cortex and widening of subarachnoid cerebrospinal fluid spaces in cerebral sulci with cerebral atrophy that accompanies aging. Results of the current whole-brain analysis largely corroborate findings from a single previous voxel-based

QSM study in that cortical magnetic susceptibility evolves unevenly during aging (28,29). The strongest effect of age was found in areas involved in the motor (Rolandic area, premotor cortex, cerebellar vermis), cognitive (dorsolateral prefrontal cortex, insular region, precuneus), and visual (cuneus, posterior cingulum, lingual and fusiform gyri) cortical areas. This is also in line with the direct measurement of iron concentration in *post mortem* tissue (15) which indicates that iron has an important contribution to magnetic susceptibility in the cortex. Overall, structures that accumulate iron with aging contain dopaminergic iron-dependent pathways and it was hypothesized that both, changes in iron content and dopaminergic transmission may be responsible for behavioral changes during aging (27,28,44).

In the white matter, magnetic susceptibility is predominantly affected by diamagnetic myelin and it was previously shown to follow a trajectory of initial susceptibility decrease reaching its minimum between 25 and 45 years of age, followed by an increase, consistent with myelin maturation and decay in the course of normal brain development (25). We found a small but significant positive effect of age on the magnetic susceptibility of the total white matter, similar to a previous study (30) suggesting that susceptibility in most white matter regions was beyond its minimum in the examined age group. However, the whole-brain QSM analysis revealed white matter regions with a small negative effect of age corresponding to areas with an age-related decrease of T2* relaxation time, predominantly in the fronto-temporal subcortical areas and rostral corpus callosum which are regions where myelin matures in late adulthood (45).

In line with previous studies (25,28) which demonstrated that the effect of age on magnetic susceptibility outweighs the impact of reference adjustment, we have used raw unreferenced values for the main analysis in order to avoid bias introduced by manual reference region placement. Secondary analysis with magnetic susceptibility referenced to the mean value of total white matter confirmed a negligible effect of susceptibility adjustment.

This study has several limitations. Firstly, its cross-sectional nature does not allow direct analysis of individual regional magnetic susceptibility values evolution throughout aging. A longitudinal study will be necessary to confirm the relationship between aging and magnetic susceptibility. Secondly, the age spectrum of participants spanning 20–60 years does not include adolescents and seniors; the results are thus not generalizable to these populations. The primary aim of this study was to provide reference values for multiple

sclerosis patients, but the results may be as well used for other diseases with an adult onset, e.g., Huntington disease, Wilson disease, or neuromyelitis optica (46,47). Thirdly, magnetic susceptibility is only a surrogate marker of iron concentration and is also influenced by other substances such as diamagnetic myelin. However, an excellent match of susceptibility values with previously published directly measured iron concentrations indicates that for grey matter structures, magnetic susceptibility is dominantly influenced by iron and the confounding effect of myelin is rather small. Fourthly, voxel-based analysis of the brain involves non-rigid warping of anatomy to match the template. This is inherently associated with registration errors that may lead to false-negative age-related associations for some brain areas. Lastly, susceptibility changes are presumably influenced not only by absolute iron content but also by changes in the relative iron concentration secondary to age-related reductions in volumes of evaluated structures (48). However, such complex relationships cannot be inferred from this cross-sectional study.

In conclusion, we have demonstrated that iron accumulates in specific brain regions with different patterns. Regions most prone to accumulate iron are the ones involved in the motor, visual, and cognitive functions. Iron accumulation follows a linear pattern during adult lifespan in the basal ganglia and most cortical areas but in the thalamus, pulvinar, precentral and occipito-temporal cortices, it follows a quadratic or exponential pattern. Changes in iron content during aging are different in the pulvinar and the rest of the thalamus. We suggest that whole brain analysis of magnetic susceptibility and segmentation of thalamic and pallidal subregions is beneficial for proper assessment of aging and disease-related changes in cerebral iron content. Departure from normal patterns of regional brain iron trajectories during aging might be helpful in the detection of subtle neurodegenerative and neuroinflammatory processes.

Acknowledgments

This work was presented as a poster at ECTRIMS virtual congress 2020.

Funding: This study was supported by the Czech Ministry of Health grant (NV18-08-00062, and RVO VFN64165), by the Charles University in Prague grant (PROGRES Q27) and by Roche company.

Footnote

Conflicts of Interest: All authors have completed the ICMJE

uniform disclosure form (available at <http://dx.doi.org/10.21037/qims-21-87>). Dr. PD reports funding from Czech Ministry of Health, grant No. NU21-04-00535 and European Union's Horizon 2020 research and innovation programme, grant No. 633190, and advisory board payment from Alexion Pharmaceuticals. Dr. MV reports funding from Czech Ministry of Health, grant No. NV 18-04-00168, honoraria for lectures and presentation from Biogen Idec, Novartis, Sanofi Genzyme, Merck Serono and Teva and support for attending meetings and/or travel from Biogen Idec, Novartis, Sanofi Genzyme. Dr. DH reports honoraria for lectures and presentation from Biogen Idec, Novartis, Sanofi, Roche and Merck and support for attending meetings and/or travel from Biogen Idec, Novartis, Sanofi, Roche and Merck. Dr. JK reports funding from Czech Ministry of Health, grant No. NV 18-04-00168 and support for attending meetings and/or travel Biogen Idec, Novartis, Sanofi Genzyme. Dr. LL serves as an unpaid editorial board member of Quantitative Imaging in Medicine and Surgery. The other authors have no conflicts of interest to declare.

Ethical Statement: The authors are accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (as revised in 2013). This study was approved by the Ethics Committee of the General University Hospital in Prague (ID1018/17), and all subjects signed informed consent.

Open Access Statement: This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0 International License (CC BY-NC-ND 4.0), which permits the non-commercial replication and distribution of the article with the strict proviso that no changes or edits are made and the original work is properly cited (including links to both the formal publication through the relevant DOI and the license). See: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

References

- Callaghan MF, Freund P, Draganski B, Anderson E, Cappelletti M, Chowdhury R, Diedrichsen J, FitzGerald THB, Smittenaar P, Helms G, Lutti A, Weiskopf N. Widespread age-related differences in the human brain microstructure revealed by quantitative magnetic resonance imaging. *Neurobiol Aging* 2014;35:1862-72.
- Lorio S, Lutti A, Kherif F, Ruef A, Dukart J, Chowdhury R, Frackowiak RS, Ashburner J, Helms G, Weiskopf N, Draganski B. Disentangling in vivo the effects of iron content and atrophy on the ageing human brain. *NeuroImage* 2014;103:280-9.
- Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Rohlfing T, Sullivan EV. MRI estimates of brain iron concentration in normal aging: Comparison of field-dependent (fMRI) and phase (SWT) methods. *NeuroImage* 2009;47:493-500.
- Taubert M, Roggenhofer E, Melie-Garcia L, Muller S, Lehmann N, Preisig M, Vollenweider P, Marques-Vidal P, Lutti A, Kherif F, Draganski B. Converging patterns of aging-associated brain volume loss and tissue microstructure differences. *Neurobiol Aging* 2020;88:108-18.
- Wang Y, Liu T. Quantitative susceptibility mapping (QSM): Decoding MRI data for a tissue magnetic biomarker. *Magn Reson Med* 2015;73:82-101.
- Langkammer C, Bredies K, Poser BA, Barth M, Reishofer G, Fan AP, Bilgic B, Fazekas F, Mainero C, Ropele S. Fast quantitative susceptibility mapping using 3D EPI and total generalized variation. *NeuroImage* 2015;111:622-30.
- Acosta-Cabronero J, Milovic C, Mattern H, Tejos C, Speck O, Callaghan MF. A robust multi-scale approach to quantitative susceptibility mapping. *NeuroImage* 2018;183:7-24.
- Dusek P, Dezortova M, Wuerfel J. Imaging of iron. *Int Rev Neurobiol* 2013;110:195-239.
- Burgetova A, Seidl Z, Krasensky J, Horakova D, Vaneckova M. Multiple sclerosis and the accumulation of iron in the Basal Ganglia: quantitative assessment of brain iron using MRI T2* relaxometry. *Eur Neurol* 2010;63:136-43.
- Connor JR, Menzies SL, Martin SMS, Mufson EJ. Cellular distribution of transferrin, ferritin, and iron in normal and aged human brains. *J Neurosci Res* 1990;27:595-611.
- Daugherty A, Raz N. Age-related differences in iron content of subcortical nuclei observed in vivo: a meta-analysis. *NeuroImage* 2013;70:113-21.
- Schipper HM. Neurodegeneration with brain iron accumulation - clinical syndromes and neuroimaging. *Biochim Biophys Acta* 2012;1822:350-60.
- Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol* 2014;13:1045-60.
- Ghadery C, Pirpamer L, Hofer E, Langkammer C, Petrovic K, Loitfelder M, Schwingenschuh P, Seiler S,

- Duering M, Jouvent E, Schmidt H, Fazekas F, Mangin J-F, Chabriat H, Dichgans M, Ropele S, Schmidt R. R2* mapping for brain iron: associations with cognition in normal aging. *Neurobiol Aging* 2015;36:925-32.
15. Hallgren B, Sourander P. The effect of age on the non-haemin iron in the human brain. *J Neurochem* 1958;3:41-51.
 16. Ramos P, Santos A, Pinto NR, Mendes R, Magalhães T, Almeida A. Iron levels in the human brain: a post-mortem study of anatomical region differences and age-related changes. *J Trace Elem Med Biol* 2014;28:13-7.
 17. Li J, Cao F, Yin H, Huang Z, Lin Z, Mao N, Sun B, Wang G. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis* 2020;11:88.
 18. Schipper HM. Brain iron deposition and the free radical-mitochondrial theory of ageing. *Ageing Res Rev* 2004;3:265-301.
 19. Daugherty AM, Haacke EM, Raz N. Striatal Iron Content Predicts Its Shrinkage and Changes in Verbal Working Memory after Two Years in Healthy Adults. *J Neurosci* 2015;35:6731-43.
 20. Kalpouzos G, Garzón B, Sitnikov R, Heiland C, Salami A, Persson J, Bäckman L. Higher Striatal Iron Concentration is Linked to Frontostriatal Underactivation and Poorer Memory in Normal Aging. *Cereb Cortex* 2017;27:3427-36.
 21. Aquino D, Bizzi A, Grisoli M, Garavaglia B, Bruzzone MG, Nardocci N, Savoiano M, Chiapparini L. Age-related Iron Deposition in the Basal Ganglia: Quantitative Analysis in Healthy Subjects. *Radiology* 2009;252:165-72.
 22. Bilgic B, Pfefferbaum A, Rohlfing T, Sullivan EV, Adalsteinsson E. MRI estimates of brain iron concentration in normal aging using quantitative susceptibility mapping. *NeuroImage* 2012;59:2625-35.
 23. Gong NJ, Wong CS, Hui ES, Chan CC, Leung LM. Hemisphere, gender and age-related effects on iron deposition in deep gray matter revealed by quantitative susceptibility mapping. *NMR Biomed* 2015;28:1267-74.
 24. Haacke EM, Miao Y, Liu M, Habib CA, Katkuri Y, Liu T, Yang Z, Lang Z, Hu J, Wu J. Correlation of putative iron content as represented by changes in R2* and phase with age in deep gray matter of healthy adults. *J Magn Reson Imaging* 2010;32:561-76.
 25. Li W, Wu B, Batrachenko A, Bancroft-Wu V, Morey RA, Shashi V, Langkammer C, Bellis MDD, Ropele S, Song AW, Liu C. Differential developmental trajectories of magnetic susceptibility in human brain gray and white matter over the lifespan. *Hum Brain Mapp* 2014;35:2698-713.
 26. Liu M, Liu S, Ghassaban K, Zheng W, Dicicco D, Miao Y, Habib C, Jazmati T, Haacke EM. Assessing global and regional iron content in deep gray matter as a function of age using susceptibility mapping. *J Magn Reson Imaging* 2016;44:59-71.
 27. Persson N, Wu J, Zhang Q, Liu T, Shen J, Bao R, Ni M, Liu T, Wang Y, Spincemaille P. Age and Sex Related Differences in Subcortical Brain Iron Concentrations among Healthy Adults. *NeuroImage* 2015;122:385-98.
 28. Acosta-Cabronero J, Betts MJ, Cardenas-Blanco A, Yang S, Nestor PJ. In Vivo MRI Mapping of Brain Iron Deposition across the Adult Lifespan. *J Neurosci* 2016;36:364-74.
 29. Betts MJ, Acosta-Cabronero J, Cardenas-Blanco A, Nestor PJ, Düzel E. High-resolution characterisation of the aging brain using simultaneous quantitative susceptibility mapping (QSM) and R2* measurements at 7T. *NeuroImage* 2016;138:43-63.
 30. Milovic C, Prieto C, Bilgic B, Uribe S, Acosta-Cabronero J, Irarrazaval P, Tejos C. Comparison of parameter optimization methods for quantitative susceptibility mapping. *Magn Reson Med* 2021;85:480-94.
 31. Huhdanpaa H, Hwang DH, Gasparian GG, Booker MT, Cen Y, Lerner A, Boyko OB, Go JL, Kim PE, Rajamohan A, Law M, Shiroishi MS. Image Coregistration: Quantitative Processing Framework for the Assessment of Brain Lesions. *J Digit Imaging* 2014;27:369-79.
 32. Li X, Chen L, Kuttan K, Ceritoglu C, Li Y, Kang N, Hsu J, Qiao Y, Wei H, Liu C, Miller M, Mori S, Yousem DM, van Zijl P, Faria AV. Multi-Atlas Tool for Automated Segmentation of Brain Gray Matter Nuclei and Quantification of their Magnetic Susceptibility. *NeuroImage* 2019;191:337-49.
 33. Mori S, Wu D, Ceritoglu C, Li Y, Kolasny A, Vaillant MA, Faria AV, Oishi K, Miller MI. MRICloud: Delivering High-Throughput MRI Neuroinformatics as Cloud-Based Software as a Service. *Comput Sci Eng* 2016;18:21-35.
 34. Avants BB, Tustison NJ, Song G, Gee JC. Ants: Open-source tools for normalization and neuroanatomy. *HeanetE* 2009;10:1-11.
 35. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *NeuroImage* 2006;31:1116-28.
 36. Joliot M, Jobard G, Naveau M, Delcroix N, Petit L, Zago L, Crivello F, Mellet E, Mazoyer B, Tzourio-Mazoyer N. AICHA: An atlas of intrinsic connectivity of homotopic areas. *J Neurosci Methods* 2015;254:46-59.

37. van der Weijden MCM, van Laar PJ, Lambrechts RA, Verbeek DS, Tijssen MAJ. Cortical pencil lining on SWI MRI in NBIA and healthy aging. *BMC Neurol* 2019;19:233.
38. Liu C, Wei H, Gong NJ, Cronin M, Dibb R, Decker K. Quantitative Susceptibility Mapping: Contrast Mechanisms and Clinical Applications. *Tomography* 2015;1:3-17.
39. Ning N, Liu C, Wu P, Hu Y, Zhang W, Zhang L, Li M, Gho SM, Kim DH, Guo H, Yang J, Jin C. Spatiotemporal variations of magnetic susceptibility in the deep gray matter nuclei from 1 month to 6 years: A quantitative susceptibility mapping study. *J Magn Reson Imaging* 2019;49:1600-9.
40. Peterson ET, Kwon D, Luna B, Larsen B, Prouty D, Bellis MDD, Voyvodic J, Liu C, Li W, Pohl KM, Sullivan EV, Pfefferbaum A. Distribution of brain iron accrual in adolescence: Evidence from cross-sectional and longitudinal analysis. *Hum Brain Mapp* 2019;40:1480-95.
41. Hagemeyer J, Dwyer MG, Bergsland N, Schweser F, Magnano CR, Heininen-Brown M, Ramasamy DP, Carl E, Kennedy C, Melia R, Polak P, Deistung A, Geurts JJG, Reichenbach JR, Zivadinov R. Effect of age on MRI phase behavior in the subcortical deep gray matter of healthy individuals. *Am J Neuroradiol* 2013;34:2144-51.
42. Zhang Y, Wei H, Cronin MJ, He N, Yan F, Liu C. Longitudinal atlas for normative human brain development and aging over the lifespan using quantitative susceptibility mapping. *NeuroImage* 2018;171:176-89.
43. Burgetova A, Dusek P, Vaneckova M, Horakova D, Langkammer C, Krasensky J, Sobisek L, Matras P, Masek M, Seidl Z. Thalamic Iron Differentiates Primary-Progressive and Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Am J Neuroradiol* 2017;38:1079-86.
44. Steiger TK, Weiskopf N, Bunzeck N. Iron Level and Myelin Content in the Ventral Striatum Predict Memory Performance in the Aging Brain. *J Neurosci* 2016;36:3552-8.
45. Branson HM. Normal Myelination: A Practical Pictorial Review. *Neuroimaging Clin N Am* 2013;23:183-95.
46. Dezortova M, Lescinskij A, Dusek P, Herynek V, Acosta-Cabronero J, Bruha R, Jiru F, Robinson SD, Hajek M. Multiparametric Quantitative Brain MRI in Neurological and Hepatic Forms of Wilson's Disease. *J Magn Reson Imaging* 2020;51:1829-35.
47. Pudlac A, Burgetova A, Dusek P, Nytrova P, Vaneckova M, Horakova D, Krasensky J, Lambert L. Deep Gray Matter Iron Content in Neuromyelitis Optica and Multiple Sclerosis. *Biomed Res Int* 2020;2020:6492786.
48. Schweser F, Hagemeyer J, Dwyer MG, Bergsland N, Hametner S, Weinstock-Guttman B, Zivadinov R. Decreasing brain iron in multiple sclerosis: The difference between concentration and content in iron MRI. *Hum Brain Mapp* 2021;42:1463-74.

Cite this article as: Burgetova R, Dusek P, Burgetova A, Pudlac A, Vaneckova M, Horakova D, Krasensky J, Varga Z, Lambert L. Age-related magnetic susceptibility changes in deep grey matter and cerebral cortex of normal young and middle-aged adults depicted by whole brain analysis. *Quant Imaging Med Surg* 2021;11(9):3906-3919. doi: 10.21037/qims-21-87

přehledový článek

Příznak centrální žíly a železného prstence u roztroušené sklerózy

Central vein sign and iron rim sign multiple sclerosis

Andrea Burgetová¹, Petr Dušek^{1,2}, Romana Burgetová^{1,3}, Adam Pudlač¹, Lukáš Lambert¹

¹Radiodiagnostická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

²Neurologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

³Radiodiagnostická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

Hlavní stanovisko práce

Sdělení přibližuje příznak centrální žíly a železného prstence, se kterými se mohou čtenáři setkat na MR vyšetření mozku.

SOUHRN

Burgetová A, Dušek P, Burgetová R, Pudlač A, Lambert L. Příznak centrální žíly a železného prstence u roztroušené sklerózy

Sdělení představuje méně známé rysy lézí bílé hmoty u pacientů s roztroušenou sklerózou, které lze identifikovat na MR sekvencích citlivých na změny lokální susceptibilitě. Příznak centrální žíly (central vein sign) označuje nález žíly procházející lézí bílé hmoty a lze ho nalézt u více než poloviny lézí bílé hmoty u pacientů s roztroušenou sklerózou. Příznak železného prstence (iron rim sign) představuje tenké prstennité ohraničení léze bílé hmoty způsobené nahromaděním makrofágů a mikroglií s vysokým obsahem železa, typicky u chronicky aktivních lézí.

Klíčová slova: roztroušená skleróza, magnetická rezonance, plak, susceptibilitně vážené obrázky, železo.

Major statement

The paper introduces the central vein sign and the iron rim sign, which readers may encounter on brain MRI.

SUMMARY

Burgetová A, Dušek P, Burgetová R, Pudlač A, Lambert L. Central vein sign and iron rim sign multiple sclerosis

In this article, we introduce less-known features of white matter lesions in patients with multiple sclerosis, which can be identified on MR sequences sensitive to changes in local susceptibility. The central vein sign indicates a finding of a vein passing through a white matter lesion and can be found in more than half of the white matter lesions in patients with multiple sclerosis. The iron rim sign is a thin annular rim of a white matter lesion caused by accumulation of iron laden macrophages and microglia, typically in chronic-active lesions.

Key words: multiple sclerosis, magnetic resonance imaging, white matter lesion, susceptibility weighted imaging, iron.

Přijato: 15. 12. 2021

Korespondenční adresa:

doc. MUDr. Andrea Burgetová, Ph.D., MBA
Radiodiagnostická klinika 1. LF UK a VFN
U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2
mail: andrea.burgetova@vfn.cz

Konflikt zájmů: žádný.

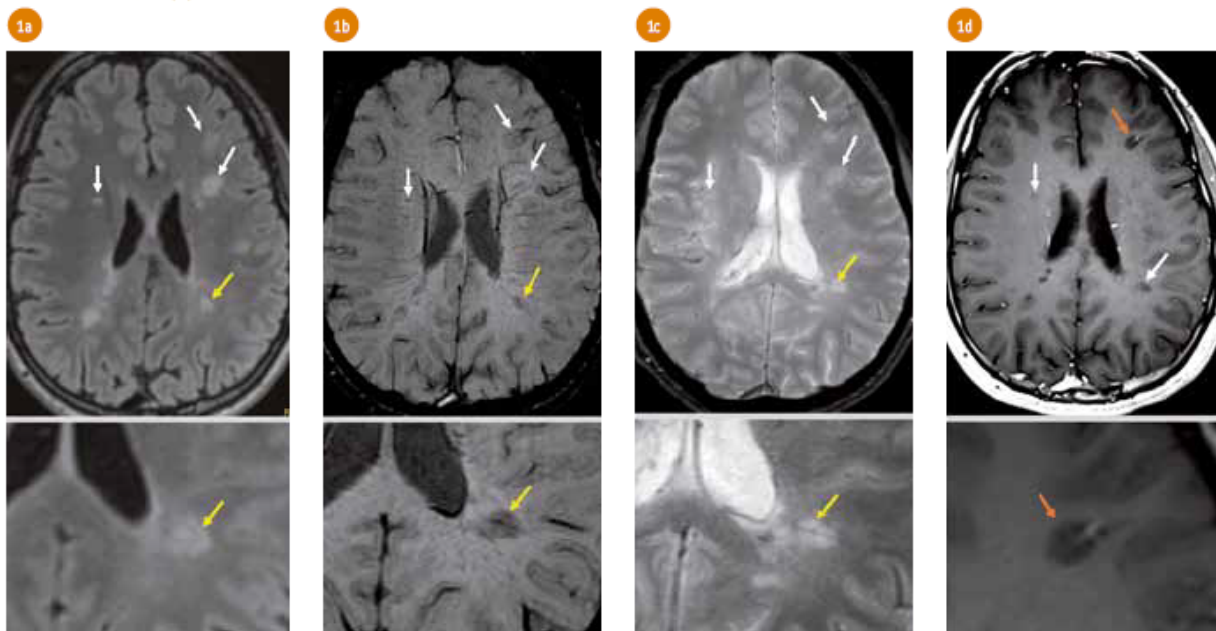
Podpořeno z programového projektu
Ministerstva zdravotnictví ČR –
NV18-08-00062, RV0 VFN6 4165.

ÚVOD

Magnetická rezonance (MR) mozku a míchy je základní zobrazovací metodou u pacientů s podezřením na roztroušenou sklerózu (RS) (1). Ačkoliv se na diagnóze podílí klinické i laboratorní vyšetření, lze diagnostická kritéria splnit nálezem diseminace v čase a prostoru z MR vyšetření na základě

McDonaldových kritérií a včasné ovlivnit průběh onemocnění léčbou (2).

Nález hypersignálních lézí v bílé hmotě na sekvenci T2/FLAIR (white matter lesions – WML) je častý a má širokou diferenciální diagnózu (3). K odlišení RS a jiných patologií nám v některých případech mohou pomoci další typické obrázky na MR, a to příznak centrální žíly a železného prstence.



1 Příznak centrální žíly v demyelinizačních lézích bílé hmoty (šípky) u 34letého pacienta s relaps-remitentní formou roztroušené sklerózy na MR v 3D FLAIR (a), SWI (b), T2 GRE (c), T1 po Gd (d) na transverzálním řezu (nahore) a v detailu (dole, žlutá a oranžová šípka). Centrální žíly probíhají kolmo na postranní komory, na SWI a T2 GRE jsou a signální, postkontrastně se sytí.

Central vein sign in a 34-year-old male with relapsing-remitting form of multiple sclerosis on MR in 3D FLAIR (a), SWI (b), T2 GRE (c), T1 postGd (d) on transverse (above) and detailed view (below). Central veins are thin traces that run perpendicular to the lateral ventricles. On SWI and T2 GRE they are hypointense and enhance on T1 postGd.

PŘÍZNAK CENTRÁLNÍ ŽÍLY

Jako **příznak centrální žíly (central vein sign)** označujeme nález centrální žíly procházející lézí bílé hmoty. Na sekvenci gradientního echa ($T2^*$) se zobrazuje jako tenká (průměr < 2 mm) hyposignální linka nebo tečka (ve dvou na sobě kolmých rovinách). Prochází středem nebo v blízkosti středu této hypersignální léze (obr. 1). Příznak centrální žíly nelze spolehlivě hodnotit u malých lézí (< 3 mm) a splývajících lézí (4).

Centrální žíla více vynikne na susceptibilně vážených sekvencích ("susceptibility weighted imaging", SWI) s vysokým rozlišením, kde je díky paramagnetickým vlastnostem deoxyhemoglobinu asignální (obr. 1) (5, 6). SWI obrazy vznikají postprocesingem sekvence gradientního echa s využitím magnetudových a fázových obrazů (7). Žíly lze dále zvýraznit použitím minIP (minimum intensity projection). Příznak centrální žíly lze identifikovat na MR mozku u zhruba **tří čtvrtin (74%) lézí u pacientů s RS** při zobrazení na 3T přístrojích (8). Venocentrická distribuce je lépe patrná u lézí lokalizovaných periventrikulárně (84%), kde jsou centrální žíly širší, směrem ke kůře záchyt

centrální žíly klesá (25%). O něco častější je u mladších pacientů s RS (9). Předpokládá se, že návaznost lézí u RS na centrální žíly je důsledkem přestupu zánettlivých elementů do parenchymu mozku právě v těchto místech (4). Jako rozumná hraniční hodnota pro odlišení RS a jiných patologií se uvádí 40% ložisek s příznakem centrální žíly. Tuto hodnotu lze spolehlivě určit i odhadem (10). Další možnosti jak zobrazit centrální žíly je postkontrastní MR vyšetření (obr. 1).

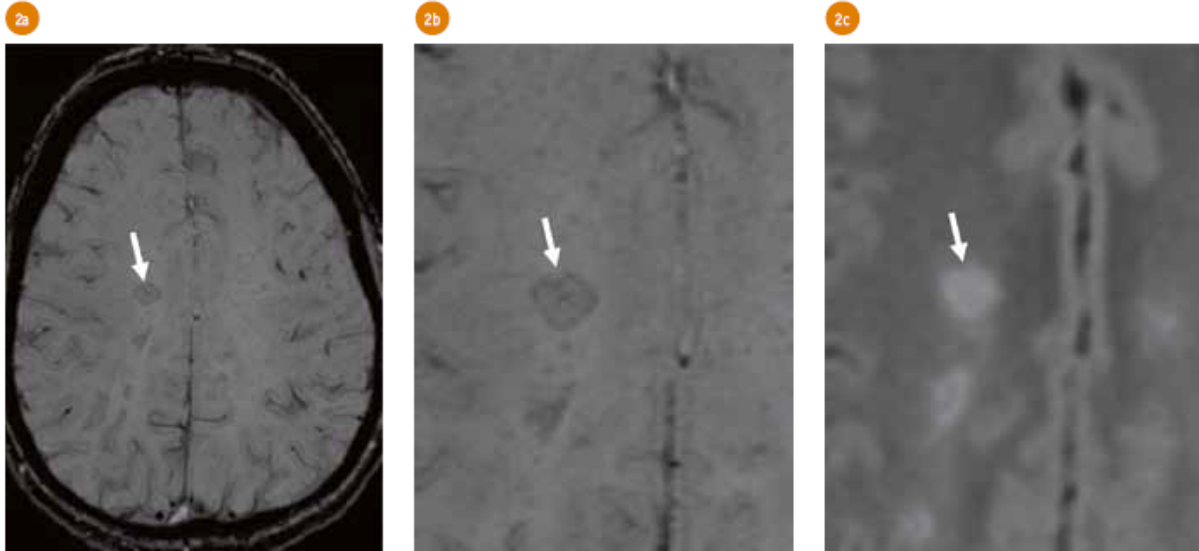
U spektra onemocnění **neuromyelitis optica** lze identifikovat kontakt lézí s centrální žílou u zhruba třetiny nemocných, nicméně zřídka se jedná o typický průběh centrální žíly středem léze (11). U **systémových onemocnění**, vaskulárních lézí při **mikroangiopatii** a dalších onemocnění se příznak centrální žíly rovněž vyskytuje jen u menšího počtu lézí (12, 13).

Příznak centrální žíly a jeho význam pro odlišení lézí bílé hmoty u RS od jiné etiologie lézí bílé hmoty je intenzivně zkoumanou entitou. Jeho klinický význam není dosud přesně vymezen. Pro případné začlenění příznaku do diagnostických kritérií RS není v současné době dostatek klinických dat. Na rozdíl od kvantifikace počtu lézí u RS je

automatizovaný software pro hodnocení příznaku centrální žíly na počátku vývoje (14).

PŘÍZNAK ŽELEZNÉHO PRSTENCE

Příznak železného prstence (iron rim sign) je tenké hyposignální prstenčité ohraničení demyelinizační léze u pacientů s roztroušenou sklerózou nejlépe viditelné na sekvencích $T2^*$ a SWI (obr. 2) (15). Neuropatologickým podkladem této abnormality je akumulace aktivních mikroglií a makrofágů s vysokým obsahem paramagnetického železa na okraji demyelinizačních plak (16). Léze, u kterých lze tento prstenec identifikovat, jsou tzv. chronicky aktivní či „doutnající“ léze, které vykazují pomalý růst na podkladě přetrvávajících zánettlivých změn (17). Přítomnost prstence koreluje s množstvím lézí s příznakem centrální žíly (18) a s velikostí lézí. Příznak železného prstence je specifický pro RS, kde je detekovatelný až u 50% pacientů, a nevyskytuje u jiných demyelinizačních onemocnění včetně neuromyelitis optica (19, 20). U RS pacientů s delším trváním nemoci,



2 Příznak železného prstence na SWI (a, b) a 3D FLAIR (c) u 49 leté pacientky s relaps-remitentní formou roztroušené sklerózy. Plaka v bílé hmotě supraventrikulárně vpravo je na SWI obkroužena hyposignálním lemem. Patrný je současně i příznak centrální žíly – centrálně uložená asignální tečka (žíla směřuje kolmo na řez).

Iron rim sign on SWI (a, c) and 3D FLAIR (b) MRI images in a 49-year-old female with relapsing-remitting form. The plaque is circumscribed by a hypointense rim. The central vein sign is also present as a hypointense dot in the center of the lesion on SWI (the vein is perpendicular to the section).

kdy se předpokládá vyhasínání imunitní aktivity, je frekvence lézí s železným prstencem nižší (21, 22). Je častější u starších pacientů a pacientů s výraznějším funkčním postižením (23). Prsteneček je rovněž častěji patrný u periventrikulárních lézí.

ZÁVĚR

Domníváme se, že se čtenáři našeho časopisu s příznakem centrální žíly a příznakem železného prstence mohou v praxi setkávat a doufáme, že jsme tímto obohatili jejich diagnostické možnosti a radiologický slovník. ●

LITERATURA

- Keřkovský M, Stulík J, Obhlídalová I, Praková P, Bednařík J, Dostál M, et al. Moderní techniky MR zobrazení u roztroušené sklerózy. *Cesk Slov Neurol N* 2017; 80(6): 647–657.
- Thompson AJ, Bamiel BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 2018; 17(2): 162–173.
- Filli L, Hofstetter L, Kuster P, Traud S, Mueller-Lenke N, Naegelin Y, et al. Spatiotemporal distribution of white matter lesions in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18(11): 1577–1584.
- Sati P, Oh J, Constable RT, Evangelou N, Guttman CRG, Henry RG, et al. The central vein sign and its clinical evaluation for the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement from the North American Imaging in Multiple Sclerosis Cooperative. *Nat Rev Neurol* 2016; 12(12): 714–722.
- Clarke MA, Pareto D, Pessini-Ferreira L, Arrambide G, Alberich M, Crescenzo F, et al. Value of 3T Susceptibility-Weighted Imaging in the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Am J Neuroradiol* 2020; 41(6): 1001–1008.
- Burgetová A, Seidl Z, Vaněčková M, Krásenský J, Horáková D. Magnetická rezonanční relaxometrie u roztroušené sklerózy – měření T2 relaxačního času v centrální šedé hmotě. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 106(1): 26–31.
- Nair JR, van Hecke W, de Belder F, Venstermans C, van den Hauwe L, van Goethem J, et al. High-Resolution Susceptibility-Weighted Imaging at 3T With a 32-Channel Head Coil: Technique and Clinical Applications. *Am J Roentgenol* 2010; 195(4): 1007–1014.
- Castellaro M, Tamanti A, Pisani AI, Pizzini FB, Crescenzo F, Calabrese M. The Use of the Central Vein Sign in the Diagnosis of Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10(12): E1025.
- Sinnecker T, Clarke MA, Meier D, Enzinger C, Calabrese M, de Stefano N, et al. Evaluation of the Central Vein Sign as a Diagnostic Imaging Biomarker in Multiple Sclerosis. *JAMA Neurology* 2019; 76(12): 1446–1456.
- George IC, Sati P, Absinta M, Cortese IC, Sweeney EM, Shea CD, et al. Clinical 3-tesla FLAIR* MRI improves diagnostic accuracy in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2016; 22(12): 1578–1586.
- Sinnecker T, Dörr J, Pfueller CF, Harms L, Ruprecht K, Jarius S, et al. Distinct lesion morphology at 7-T MRI differentiates neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Neurology* 2012; 79(7): 708–714.

12. Maggi P, Absinta M, Grammatico M, Vuolo L, Emmi G, Carlucci G, et al. Central vein sign differentiates Multiple Sclerosis from central nervous system inflammatory vasculopathies. *Ann Neurol* 2018; 83(2): 283–294.
13. Mistry N, Abdel-Fahim R, Samaraweera A, Mougín O, Tallantyre E, Tench C, et al. Imaging central veins in brain lesions with 3-T T2*-weighted magnetic resonance imaging differentiates multiple sclerosis from microangiopathic brain lesions. *Mult Scler* 2016; 22(10): 1289–1296.
14. Maggi P, Fartaria MJ, Jorge J, La Rosa F, Absinta M, Sati P, et al. CVSnet: A machine learning approach for automated central vein sign assessment in multiple sclerosis. *NMR Biomed* 2020; 33(5): e4283.
15. AlTokhis AI, AlOtaibi AM, Felmban GA, Constantinescu CS, Evangelou N. Iron Rims as an Imaging Biomarker in MS: A Systematic Mapping Review. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10(11): 968.
16. Kaunzner UW, Kang Y, Zhang S, Morris E, Yao Y, Pandya S, et al. Quantitative susceptibility mapping identifies inflammation in a subset of chronic multiple sclerosis lesions. *Brain* 2019; 142(1): 133–145.
17. Absinta M, Sati P, Schindler M, Leibovitch EC, Ohayon J, Wu T, et al. Persistent 7-tesla phase rim predicts poor outcome in new multiple sclerosis patient lesions. *J Clin Invest* 2016; 126(7): 2597–2609.
18. Suthiphosuwat S, Sati P, Absinta M, Guenette M, Reich DS, Bharatha A, et al. Paramagnetic Rim Sign in Radiologically Isolated Syndrome. *JAMA Neurology* 2020; 77(5): 653–635.
19. Chawla S, Kister I, Wuerfel J, Brisset J-C, Liu S, Sinnecker T, et al. Iron and Non-Iron-Related Characteristics of Multiple Sclerosis and Neuromyelitis Optica Lesions at 7T MRI. *Am J Neuroradiol* 2016; 37(7): 1223–1230.
20. Maggi P, Sati P, Nair G, Cortese ICM, Jacobson S, Smith BR, et al. Paramagnetic Rim Lesions are Specific to Multiple Sclerosis: An International Multicenter 3T MRI Study. *Ann Neurol* 2020; 88(5): 1034–1042.
21. Bozin I, Ge Y, Kuchling J, Dusek P, Chawla S, Hams L, et al. Magnetic Resonance Phase Alterations in Multiple Sclerosis Patients with Short and Long Disease Duration. *PLoS One* 2015; 10(7): e0128386.
22. Stüber C, Pitt D, Wang Y. Iron in Multiple Sclerosis and Its Noninvasive Imaging with Quantitative Susceptibility Mapping. *Int J Mol Sci* 2016; 17(1): 100.
23. Dal-Bianco A, Grabner G, Kronnerwetter C, Weber M, Höftberger R, Berger T, et al. Slow expansion of multiple sclerosis iron rim lesions: pathology and 7T magnetic resonance imaging. *Acta Neuropathol* 2017; 133(1): 25–42.